

**Diplomarbeit**

**Antibiotikaresistenz von *Helicobacter pylori* in  
Südösterreich**

eingereicht von

**Wolfgang Schneider**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt am

**Klinik für Infektiologie und Tropenmedizin**

unter der Anleitung von

**Ass.Prof.<sup>in</sup> Priv.-Doz.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> med.univ. Ines Zollner-Schwetz**

*Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 19.1.2015*

*Wolfgang Schneider eh*

## **Danksagungen**

Ich möchte mich in erster Linie herzlich bei Ass.Prof.<sup>in</sup> Priv.-Doz.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> Ines Zollner-Schwetz für ihre geduldige und hilfreiche Betreuung bedanken. Sie betraute mich mit dem interessanten Thema und stand mir stets mit Rat und Tat zur Seite. Ein besonderes Dankeschön gilt dem gesamten Team des mikrobiologischen Labors des LHK Graz, welches die Studie tatkräftig unterstützte. Ein weiterer Dank geht an die verschiedenen Zentren in Graz und in der Peripherie, ohne deren Unterstützung die Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Ich danke dem österreichischen Sozialstaat, und damit jedem Steuerzahler, für die einzigartige Möglichkeit, das Studium der Humanmedizin ohne soziale Hürden absolviert haben zu können. Außerdem möchte ich mich herzlich bei meiner Familie und meinen Freunden bedanken, die mir während des gesamten Studiums sowohl finanziell, aber vor allem mit guten Worten und Geduld zu Seite gestanden sind.

*Happiness only real when shared.*

Christopher McCandless

# Zusammenfassung

## *Einleitung*

Die Infektion mit *Helicobacter pylori* ist nach wie vor eine der häufigsten Infektionserkrankungen weltweit. Die chronische Infektion kann Erkrankungen wie Gastritis, peptische Ulzera, ein Magenkarzinom oder MALT-Lymphom verursachen. Wenn eine Eradikation durchgeführt wird, ist Resistenz gegenüber Antibiotika die häufigste Ursache für ein Therapieversagen. Weil die Resistenzraten regional sehr unterschiedlich sind, ist das Ziel der Studie die Primär- und Sekundärresistenzen von *H. pylori* in Südösterreich zu erheben.

## *Methoden*

In 10 Zentren in Südösterreich wurden von August 2013 - Oktober 2014 im Zuge einer Routinegastroskopie von 777 Patienten Biopsien der Magenschleimhaut entnommen. Diese wurden kultiviert und auf Wachstum von *H. pylori* untersucht. Die positiven Kulturen wurden mittels E-Test Streifen hinsichtlich ihrer Sensibilität gegenüber Moxifloxacin, Levofloxacin, Doxycyclin, Tetracyclin, Rifampicin, Metronidazol, Clarithromycin und Amoxicillin untersucht.

## *Ergebnisse*

Bei 102 Patienten (13,1%) zeigte sich ein Keimwachstum. 81 Probanden waren noch nie zuvor eradiziert worden. Von diesen zeigten 17,7% eine Resistenz gegenüber Clarithromycin und 17,7% gegen Rifampicin, 6,3% gegenüber Metronidazol und 5,1% gegen Levofloxacin. Die Sekundärresistenzen waren deutlich höher mit 72,2% für Clarithromycin, 27,8% für Metronidazol, 27,8% für Rifampicin und 11,1% für Levofloxacin.

## *Interpretation*

Die Ergebnisse zeigen ein anderes Bild als bereits erhobene Daten aus Österreich (36,6% Resistenz für Clarithromycin). Die Standard-Tripel Therapie (Clarithromycin, Amoxicillin/Metronidazol, PPI) kann auf Basis dieser Daten weiterempfohlen werden. Die festgestellte hohe Rifampicinresistenz sollte Grundlage für weiterführende Untersuchungen darstellen.

# Abstract

## *Introduction*

Infection by *Helicobacter pylori* is still one of the infectious diseases with the highest prevalence worldwide. Chronic *H. pylori* infection can lead to gastritis, peptic ulcer disease, gastric cancer or malt-lymphoma. When eradication therapy is attempted one of the major causes of therapeutic failure is antibiotic resistance. Based on the recent published data, resistance rates vary significantly depending on the region. The aim of our study is to evaluate antimicrobial resistance of *H. pylori* in Styria and Carinthia.

## *Methods*

In ten centres, located in the southern parts of Austria, gastric biopsies were collected from 777 patients from August 2013 until October 2014. Those biopsies were cultivated and investigated for growth of *H. pylori*. The positive *H. pylori* cultures were investigated concerning their susceptibility for moxifloxacin, levofloxacin, doxycyclin, tetracyclin, rifampin, metronidazole, clarithromycin and amoxicillin.

## *Results*

In 102 patients (13.1%) *H. pylori* was cultivated. 81 had never received eradication therapy before. Of those 17.7% were resistant against clarithromycin and 17.7% against rifampin. 6.3 %, 5.1% were the rates for metronidazole and levofloxacin, respectively. The secondary resistance rates were significantly higher with 71.2 % for clarithromycin, 27.8% for both rifampin and metronidazole and 1.1% levofloxacin.

## *Conclusions*

The results shown differ a lot from the recently published data by Megraud et al. (36.6% resistance of clarithromycin). Based on our data the recommendation of standard triple-therapy consisting of clarithromycin, amoxicillin/metronidazole and PPI can still be maintained in the region of Styria and Carinthia. The high resistance rate of rifampin should be case of interest in following studies.

# Inhaltsverzeichnis

DANKSAGUNGEN.....	II
ZUSAMMENFASSUNG .....	IV
ABSTRACT .....	V
INHALTSVERZEICHNIS .....	VI
ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	VIII
TABELLENVERZEICHNIS .....	IX
1 EINLEITUNG.....	1
1.1 Geschichte.....	1
1.2 Mikrobiologie.....	1
1.3 Epidemiologie.....	2
1.4 Pathogenität.....	3
1.4.1 Virulenzfaktoren.....	4
1.5 Krankheiten.....	9
1.5.1 Gastropathien.....	9
1.5.2 Extragastrale Krankheiten .....	14
1.6 Diagnose.....	14
1.6.1 Histologie .....	15
1.6.2 Kultur.....	15
1.6.3 Urease Schnelltest.....	15
1.6.4 Urease Atemtest.....	16
1.6.5 Stuhl Antigen Test.....	16
1.6.6 Serologie.....	16
1.7 Therapie.....	17
1.7.1 Therapieoptionen.....	19
1.7.2 Aktuelle Guidelines .....	23
1.8 Antibiotikaresistenz.....	23
1.8.1 Resistenzarten.....	24
2 MATERIAL UND METHODEN .....	28
3 ERGEBNISSE – RESULTATE.....	30
3.1 Gesamtes Patientenkollektiv.....	30
3.2 H. pylori positive Patienten.....	31
3.2.1 Clarithromycin sensibel vs. Clarithromycin resistent.....	37
3.2.2 Rifampicin sensibel vs. Rifampicin resistent.....	39
4 DISKUSSION.....	44
4.1 Clarithromycin.....	44
4.2 Rifampicin.....	46
4.3 Metronidazol.....	47
4.4 Levofloxacin.....	47
4.5 Resistenzentwicklung.....	48
4.6 Zusammenfassung.....	49

LITERATURVERZEICHNIS .....	51
ANHANG FRAGEBOGEN .....	58

## Abbildungsverzeichnis

Helicobacter pylori(4).....	1
Urease kontrollierter Stoffwechselfvorgang (13) .....	3
Virulenzfaktoren und ihre Wirkung(15).....	4
Eradikationsschemata nach Maastricht IV Consensus Report(44) .....	22
Antibiogramm; E-Test Streifen auf Agar Platte (69) .....	25
Verteilung der Biopsien nach Einsendern (n=777) .....	30
Indikationen für die ÖGD (n=777).....	31
Verteilung der Herkunftsländer bei H. pylori positiven Patienten. (n=102) .....	32
Befunde der Gastroskopien bei H. pylori positiven Patienten (n=102).....	32
Vergleich der H. pylori positiven und negativen Gruppe nach ihrem Alter gegenübergestellt. ....	33
Clarithromycin n=102; MHK $S \leq 0,25$ $R > 0,5$ mg/L breakpoint nach EUCAST(77) .....	34
MHK Werte von Rifampicin $S \leq 1$ ; $R > 1$ (77) .....	34
MHK Werte von Metronidazol $S \leq 8$ ; $R > 8$ (74) .....	35
MHK Werte von Levofloxacin $S \leq 1$ ; $R > 1$ (74).....	35
Primärresistenz n=81 .....	36
Sekundärresistenz n=21 .....	37
Häufigkeit der sensiblen und resistenten H. pylori Kulturen gegen Clarithromycin nach Herkunft der Eltern. (n=102).....	39
Häufigkeit der sensiblen und resistenten H. pylori Kulturen gegen Rifampicin nach Herkunft der Eltern. (n=102).....	41

## **Tabellenverzeichnis**

Funktion und Wirkmechanismus weiterer Virulenzfaktoren von <i>H. pylori</i> .....	8
Diagnosen mit Empfehlung zur Eradikationstherapie (51) .....	18
Resistenzarten nach Aktories (54) .....	24
MHK Grenzwerte nach EUCAST (76) .....	29
Wahrscheinlichkeiten eines Zusammenhangs zwischen einem resistenten Keim und einer bestimmten Diagnose. ....	39
Wahrscheinlichkeiten eines Zusammenhangs zwischen einem Rifampicin resistenten Keim und einer bestimmten Diagnose. ....	40
Kreuztabellen der anamnestischen Risikofaktoren für Resistenz (n=102).....	41
Gastroskopische Befunde in Bezug auf Clarithromycin und Rifampicin Resistenz (n=101) .....	42

# 1 Einleitung

## 1.1 Geschichte

Der menschliche Gastrointestinaltrakt (GIT) stellt eine Hürde für oral aufgenommene Mikroorganismen dar. Wegen der lebensfeindlichen Bedingungen im gastralen Umfeld galt es lange Zeit als gegeben, dass es sich hierbei um ein steriles Milieu handelt. Dieses Paradigma wurde durch die Entdeckung des gram-negativen Bakteriums *Helicobacter pylori* im Jahre 1983 aufgehoben.(1) Mittlerweile erbrachte eine Studie den Nachweis, dass der menschliche Magen eine Vielzahl von Organismen neben *H. pylori* beherbergt. Man konnte eine mikrobiotische Besiedelung von 128 Phylotypen aus 8 verschiedenen Gruppen nachweisen.(2)

Im Jahre 1984 isolierten im Royal Perth Hospital in Australien zwei Wissenschaftler, Barry Marshall und John Robin Warren, den Keim *H. pylori*. Dieser wurde aus Biopsieproben von Patienten mit gastralen Beschwerden, chronischen Magenentzündungen oder peptischen Ulzera kultiviert. Basierend auf ihren Forschungsergebnissen publizierten sie die Hypothese, dass es sich hierbei um durch dieses Bakterium ausgelöste Beschwerden handelt. Dies stellte einen Meilenstein in der gastroenterologischen Forschung und Behandlung von chronischen Magenbeschwerden dar. Aufgrund dessen wurden Marshall und Warren 2005 mit dem Nobelpreis für Medizin für die Entdeckung des Bakteriums *H. pylori* und dessen Rolle bei Erkrankungen wie peptischen Ulzera ausgezeichnet.(3)

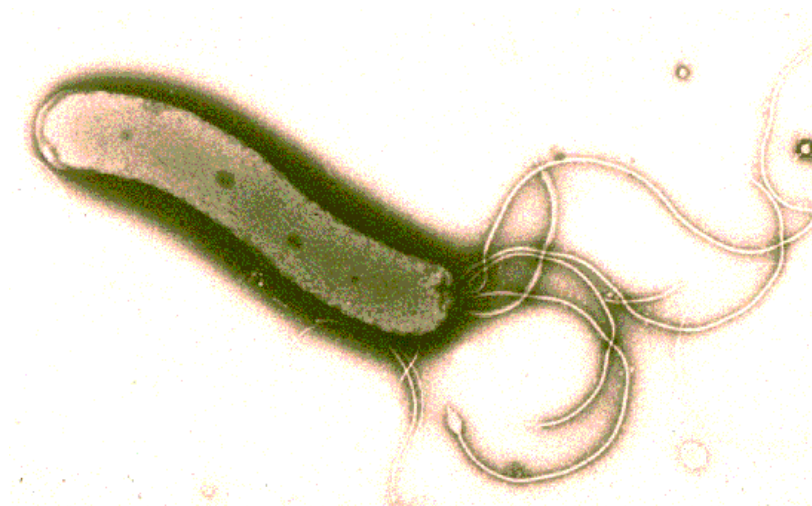


Abbildung 1: *Helicobacter pylori*(4)

## 1.2 Mikrobiologie

*H. pylori* ist ein spiralförmiges, gram-negatives Bakterium, das die Magenschleimhaut besiedelt.(3) Der aerophile Mikroorganismus misst in etwa 3,5 Mikrometer in Länge und 0,5

Mikrometer in der Breite. Die Kolonien messen in etwa 0,5-1mm, sind glatt begrenzt, transparent und lassen eine diskrete Betahämolyse beobachten. Das Bakterium kann morphologisch unter dem Mikroskop durch Gramfärbung und seine typische spiralartige Erscheinungsform charakterisiert werden. Unter dem Elektronenmikroskop zeigt sich sein Antrieb: 4-5 einpolig befestigte und beschichtete Geißeln, womit es sich in Flüssigkeiten spielerisch fortbewegen kann.(5) Zusätzlich zu dieser morphologischen Beschreibung ist der Keim biochemisch als Katalase, Oxidase und Urease positiv zu charakterisieren.(6),(7)

### **1.3 Epidemiologie**

Eine *H. pylori* Infektion ist nach wie vor eine der häufigsten menschlichen Infektionskrankheiten weltweit. Schätzungen gehen von einer Prävalenz von 50-80% der Weltbevölkerung aus. Die Prävalenz in entwickelten Ländern in Europa liegt zwischen 10-30% (mit einer Steigerung von 1-3% pro Altersdekade).(8) Die Prävalenz von *H. pylori* nimmt in Europa, Australien und den USA, wo im Mittel 10-15% der Erwachsenen Bevölkerung infiziert ist, stetig ab.(9) *H. pylori* ist in den hoch entwickelten Ländern der westlichen Welt auf dem Rückzug. Als Grund hierfür wird die Verbesserung in sanitären Einrichtungen, Erhöhung des Lebensstandards, der Hygiene, sowie der relativ kürzlich eingesetzten Bewegung vom Land in urbane Lebensräume angesehen.(10) Die momentane Infektionsrate im Jahre 2011 war in der Tschechischen Republik deutlich niedriger, verglichen mit der Rate aus den identen geographischen Regionen von 2001. (23.5% vs. 41.7%,  $P < 0.001$ ). (8) Im Gegensatz dazu liegt eine Durchseuchungsrate von bis zu 95% in Entwicklungsländern vor.(8)

Die Infektion eignet man sich typischerweise in der frühen Kindheit an, meist durch Weitergabe von Mutter auf Kind. Daraufhin verweilt das Bakterium im Magen für die verbleibende Lebenszeit. Die chronische Infektion beginnt meist im Antrum des Magens. Wie zu Beginn von Robin Warren berichtet, ist die Anwesenheit von *H. pylori* meist mit einer Entzündung der darunterliegenden Magenschleimhaut assoziiert. Als Beweis hierfür gilt die Infiltration des Gewebes durch Entzündungszellen.(3) Zu den Risikofaktoren für eine *H. pylori* Infektion gehören niedriger sozioökonomischer Status, begrenzter Zugang zu Bildung, beengte und überfüllte Wohnungen sowie mangelhafter Zugang zu sauberem Trinkwasser. Es wurden keine signifikanten Geschlechterunterschiede beobachtet.(10)

## 1.4 Pathogenität

Hauptfunktionen des Magens sind die Initiation der Verdauung sowie die Inaktivierung von aufgenommenen Mikroorganismen, wie Bakterien, Viren, Pilzen oder Parasiten, um sie davon abzuhalten den Darmtrakt zu erreichen.(11) Wichtig zu erwähnen ist, dass der obere GIT eine lebensunfreundliche Umgebung darstellt, und dass Mikroorganismen zuallererst die Barrieren wie Magenschleim und andere antimikrobielle Verteidigungsmechanismen im Magen und Duodenum überwinden müssen, bevor sie diese Regionen besiedeln können. Der muzzinhaltige Magenschleim wird von Nebenzellen produziert und bildet einen dünnen, gelartigen Film, sowie eine äußere Schicht, welche leicht entfernbar ist.(9)

Das pathogene Bakterium *H. pylori* hat sich eine starke Urease Aktivität angeeignet, um in der unwirtlichen Umgebung des menschlichen Magens überleben zu können. Der Mechanismus, der dieses Unterfangen möglich macht, war deshalb Fokus von vielen Untersuchungen. Die protektive Rolle dieses Enzyms, welches Harnstoff durch Hydrolyse zu Ammoniak und Kohlendioxid verstoffwechselt, ist ein essentieller Baustein für dieses Unterfangen. Der entstandene Ammoniak erhöht durch die Bindung von H<sup>+</sup> Ionen in wässrigem Milieu den pH-Wert.

Die Studien zeigten, dass das cytoplasmatische Enzym Urease, in Zusammenarbeit mit einem Harnstofftransporter imstande ist, das Milieu um das Bakterium bei circa pH 6,2 zu stabilisieren, während der äußere pH zwischen 2,5 und 6 schwankt. Daraus folgt, dass *H. pylori* dazu in der Lage ist, einen negativen elektrochemischen Gradient über die cytoplasmatische Membran zu halten; eine Voraussetzung für Wachstum und Bewegung.(12)

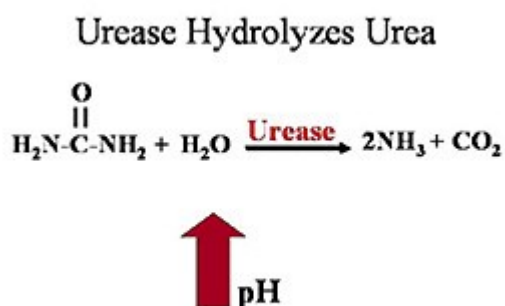


Abbildung 2: Urease kontrollierter Stoffwechselfvorgang (13)

### 1.4.1 Virulenzfaktoren

Virulenzfaktoren sind Größen, um die Fähigkeit eines Keimes, eine Krankheit auszulösen, beschreiben zu können. Echte Virulenzfaktoren müssen deshalb eine eindeutig nachweisbare Assoziation mit einer Krankheit aufweisen. Es muss ein Zusammenhang zwischen dem vorhandenen Virulenzfaktor und zum Beispiel der Zunahme der Schleimhautinflammation nachweisbar sein.(14) Um die Infektion aufrecht zu erhalten, hat *H. pylori* ausgeklügelte und differenzierte Mechanismen entwickelt. Solange dieser nicht therapeutisch eradiziert wird, kann von einer lebenslangen Infektion ausgegangen werden. Deshalb gilt er als einer der erfolgreichsten Krankheitserreger beim Menschen.(15)

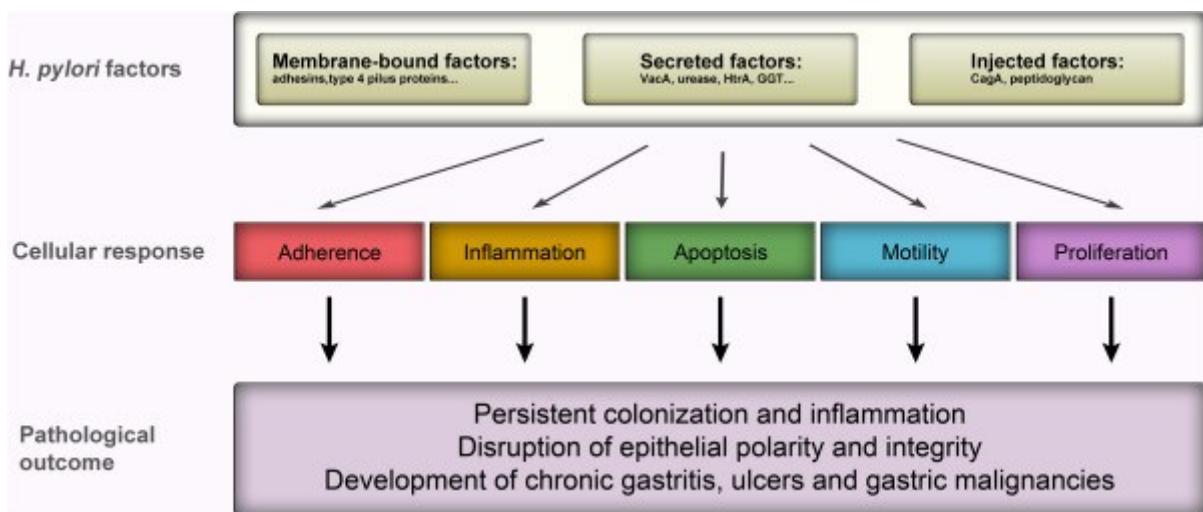


Abbildung 3: Virulenzfaktoren und ihre Wirkung(15)

Einzelne Bakterienisolate beherbergen unterschiedliche genetische Merkmale, welche entscheidend an der hartnäckigen Besiedelung und Pathogenese beteiligt sind. Einige davon wurden bereits als Virulenzfaktoren definiert, wogegen andere als wichtige Nischenparameter der Besiedelung ohne primäre pathogene Wirkung eingeordnet werden. Es wurden allerdings vermutlich noch nicht alle dieser Merkmale gefunden, und wieder andere sind Gegenstand weiterer Untersuchungen, um sie näher zu klassifizieren.(15)

Einige dieser Faktoren nehmen Einfluss auf den wirtsspezifischen Stoffwechsel und Zellmechanismen. Der Einfluss von *H. pylori* auf diese Signalwege resultiert in Adhärenz, Induktion von proinflammatorischen Antworten durch Zytokin- oder Chemokinausschüttung, Apoptose, und Proliferation.(15) Adhäsion ist der erste entscheidende Schritt in der Besiedelung des Magens. Obwohl die bakterielle Adhärenz einen wichtigen Punkt für die Pathogenese von *H. pylori* darstellt, sind noch nicht alle

Effekte von Adhärenzfaktoren auf Signalwege der Wirtszellen geklärt.(15)Die meisten Virulenzfaktoren befinden sich an der Zelloberfläche. Zumindest 32 OMPs (outer membrane proteins) wurden bereits identifiziert. Die meisten dieser sind in die bakterielle Adhärenz involviert. Wichtige Proteine sind u.a. das blood group antigen-binding adhesin (BabA), sialic acid-binding adhesin (SabA), adherence-associated lipoprotein, und das outer membrane inflammatory protein (oipA).(14)

#### **1.4.1.1 Blood group antigen binding adhesion (BabA)**

BabA, ein Blutgruppenantigen Adhäsionsfaktor, mediiert die Adhärenz von *H. pylori* über das humane Lewisb Blutgruppenantigen an die gastrale Epithelzelle. (23, 24). Es kommt zu einer Interaktion zwischen BabA und Lewisb sowie den ALeb und BLeb Antigenen.(16) Adhärenz-Studien konnten zeigen, wie sich *H. pylori*, gesteuert durch Blutgruppenantigene, spezifisch parallel an die gastrale Epitheloberfläche bindet.(17)

#### **1.4.1.2 Urease**

Aufgrund der Aktivität des Enzyms Urease besitzt das Bakterium die Fähigkeit, in dem stark saurem Milieu des Magens (pH 2,5) zu siedeln. Dies geschieht durch den Urease-gesteuerten hydrolytischen Prozess von Harnstoff und Wasser zu Ammoniak und Kohlendioxid, und macht das Enzym unabdingbar für die erfolgreiche Infizierung.(18)

Ammoniak (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) ist nicht nur für die erfolgreiche Besiedelung verantwortlich, sondern hat auch eine entscheidende Rolle in der Zerstörung von Tight-junctions und damit der funktionellen Integrität der gastralen Schleimhaut. Es ist einer der wichtigsten Stoffe für die Verletzung der Magenschleimhaut und trägt damit großen Anteil an der Entwicklung von peptischen Ulzera im Zuge einer *H. pylori* Infektion. Die genauen Mechanismen auf molekularer Ebene sind allerdings noch nicht restlos geklärt. (19)

#### **1.4.1.3 Vacuolating Cytotoxin A (VacA)**

VacA ist einer der wichtigsten Virulenzfaktoren von *H. pylori*. Der Name beschreibt die Fähigkeit des Toxins in kultivierten Zellen große Vakuolen zu bilden. VacA ist ein Akteur in verschiedenen Vorgängen. Eine wichtige Rolle spielt das Toxin sowohl bei Interaktionen mit dem Immunsystem, Permeabilitätsänderungen, Polarisierung von Epithelzellmembranen und Induktion von apoptotischen Vorgängen.(20) VacA ist ein Protoxin von 140 kDa, bestehend aus einem N-Terminal Signalregion, einer zentralen Region von 88 kDa, und einem C-terminalen Autotransporter, der die Sekretion des Toxins ermöglicht.(21) Der Virulenzfaktor wird von den gastralen Epithelzellen internalisiert und bildet Poren in der Zellmembran, wodurch es zu einer starken Zellschwellung und einem vakuolartigen

Erscheinungsbild kommt.(15) In mehreren Studien konnte VacA in Vakuolen detektiert werden, allerdings kaum in den Mitochondrien. Um eine mitochondrial gesteuerte Apoptose auszulösen musste dieser Link geschlossen werden. Es gibt Hinweise, dass dies durch die Proteine Bax und Bak aus der Gruppe des *Bcl2* Gene geschieht. VacA induziert sowohl Bax als auch Bak und bewirkt dadurch eine Juxtaposition von Endosom und Mitochondrium. Über einen Anstieg der Cytochrom c Konzentration kommt es zur Einleitung der Apoptose.(22),(23) Aufgrund dieser facettenreichen zellulären Reaktionen, wird VacA als ein multifunktionales Toxin erachtet.(15)

#### **1.4.1.4 Type IV Sekretionssystem**

Type IV Sekretionssysteme (T4SS) sind makromolekulare Anordnungen, die unter anderem von Bakterien für Materialtransport über Membrangrenzen genützt werden. T4SS bestehen aus einem Aggregat von 12 Proteinen. Dies stellt eine dynamische Maschine dar, welche mittels 3 ATPasen betrieben wird. T4SS sind verbreitet in pathogenen Keimen. Sie werden von denselben meist genutzt, um Substanzen in Wirtszellen einzuschleusen.(24)

Diese Systeme werden je nach Funktion in 3 verschiedene Gruppen eingeteilt.

- Gruppe 1: Hierbei wird mittels Konjugation DNA von einer Zelle in eine andere geschleust. Es ist wichtig zu verstehen, dass der Vorgang sich neue DNA Sequenzen anzueignen ein markanter Selektionsvorteil für einen Organismus darstellt. Dadurch ist es dem Bakterium möglich, sich rasch an wechselnde Umweltgegebenheiten anzupassen. Diese Mechanismen sind an der Weitergabe von Antibiotikaresistenzgenen unter pathogenen Keimen beteiligt.(24)
- Gruppe 2: Dies wird durch das ComB-System von *H. pylori* beispielhaft. Es ermöglicht die Aufnahme und Ausschleusung von DNA aus und in das extrazelluläre Milieu.(24)
- Gruppe 3: Sind zuständig für den Transfer von Proteineffektoren. Man kann diese T4SS auch als molekulare Pumpsysteme beschreiben, welche die Interaktion zwischen Erreger und Wirt erleichtern bzw. es dem Erreger ermöglichen, gewisse Toxine in den Wirt zu injizieren.(24)

#### **1.4.1.5 Duodenal ulcer promoting gene (dupA)**

DupA war der erste isolierte Virulenzfaktor von *H. pylori*, für den man eine Assoziation für die Entwicklung von Duodenalulzera nachweisen konnte. Dem entsprechend kann er als krankheitsspezifischer Virulenzmarker angesehen werden. Es konnte ein Zusammenhang dargestellt werden, der zeigte, dass die Prävalenz von dupA in *H. pylori* Stämmen, von Patienten mit Duodenalulzera signifikant höher war. Dagegen sah man eine niedrigere Prävalenz in jenen mit Magenkarzinomen (im Mittel 42% vs. 9%).(25) In einer Studie von Hussein et al. konnte gezeigt werden, dass dupA positive *H. pylori* Stämme mit höheren IL-8 Konzentrationen in der Magenmukosa assoziiert sind, als dupA negative Stämme. Dies gründet auf einer verstärkten proinflammatorischen Zytokinproduktion durch mononukleare Zellen.(26)

#### **1.4.1.6 CagA**

Das cytotoxin-associated gene A (CagA) Protein wird von *H. pylori* mittels Typ IV Sekretionssystem in die Magenepithelzellen eingeschleust. CagA ist ein Protoonkogen, das es vermag, maligne Neoplasien zu induzieren. Bis zur Einschleusung stört das Protein verschiedene Signaltransduktionen im Wirt. Einerseits kann CagA direkt onkogenetische Signale auslösen, andererseits führt es zu genetischer Instabilität. Trotz der entscheidenden Rolle des Proteins in der Entwicklung von Magenkarzinomen ist die Anwesenheit von CagA in einer etablierten Krebszelle nicht notwendig um den neoplastischen Charakter zu erhalten. CagA ist dementsprechend kein Faktor „sine qua non“. (27) Von spezieller Bedeutung für die karzinogene Wirkung des CagA Gens ist seine Interaktion mit der SHP-2 Tyrosin Phosphatase von HP oder von der Magen zelle. Hierdurch kommt es zu einer „gain-of-function“ Mutation. Eine solche Mutation wurde in Studien bei mehreren bösartigen Erkrankungen festgestellt.(28) CagA beeinflusst eine Reihe von Molekülen (c-Abl, Src, Crk proteins, Grb proteins, Shp proteins, etc.). All diese sind wichtig für die Regulation der Proliferation und Apoptose. Die Deregulation solcher Protoonkogene oder Tumorsuppressorgene durch CagA prädisponiert die Zelle in Richtung einer möglichen malignen Entartung.(15) Weiters wurde von *H. pylori* Stämmen berichtet, die eine biologisch aktivere Version des CagA Gens tragen als andere, weshalb davon ausgegangen werden muss, dass eben diese *H. pylori* Stämme eine höhere Möglichkeit besitzen, zelluläre Abläufe zu stören und dadurch stärker mit der Entwicklung eines Magenkarzinom in Verbindung zu bringen sind.(28)

Weitere Virulenzfaktoren und ihre Funktion sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Funktion und Wirkmechanismus weiterer Virulenzfaktoren von *H. pylori*

Virulenzfaktor	Funktion	Mechanismus
SabA	Adhäsion	SabA bindet an durch Sialinsäure, modifizierte Glykosphingolipide der Wirtszelle (sialyl Le <sup>x</sup> ) (29)
AlpA/B	Adhäsion	erleichtert die Bindung von <i>H. pylori</i> an Kato-3 Zellen und an die Oberfläche des Magengewebes(15)
OipA	Adhäsion, Proinflammatorisch	IL-8 Induktion in gastralem Epithel(30)
HtrA	Chaperone und Serinprotease	Proteinabbau, Proteinfaltung und E-Cadherin-Spaltung(15)
Peptidoglykane	Signaltransduktion	Unterstützt Zellform, Proinflammatorische Regulation durch Nod1 Rezeptor Aktivierung(14)

#### 1.4.1.7 Virulenzfaktoren-Stammabhängigkeit

Obwohl *H. pylori* Infektion mit verschiedensten gastroduodenalen Krankheiten eng assoziiert ist, entwickelt diese nur ein geringer Prozentsatz der Patienten, der Großteil bleibt asymptomatisch. Trotz vergleichbarer Prävalenzzahlen an Infektionen konnten in mehreren Studien unterschiedliche Inzidenzraten für Pathologien nachgewiesen werden. Diese geographischen Unterschiede können am ehesten durch die Präsenz verschiedener Bakterienstämme erklärt werden, welche mit einer variierenden Kombination dieser Virulenzfaktoren ausgestattet sind.(25)

So sind zum Beispiel dreifach positive Isolate (BabA<sup>+</sup>, VacAs1<sup>+</sup>, CagA<sup>+</sup>) zeigten eine größere Kolonisierungsdichte, stärkere Entzündungszeichen sowie eine höhere Inzidenz von intestinaler Metaplasie verglichen mit VacAs1<sup>+</sup>, CagA<sup>+</sup> zweifach positiven *H. pylori* Stämmen.(15) Dreifach-positive Stämme haben die höchsten Inzidenzzahlen sowohl für Ulzera als auch für Magenkarzinome.(17)

Wie beschrieben sind Virulenzfaktoren wie *cagA*, *vacA*, *dupA*, *oipA* oder *babA* gute Gradmesser für die Schwere der Erkrankung. Deshalb sollte ein Hauptfokus auf der Stammanalyse und deren Ausstattung mit Virulenzfaktoren liegen.(25)

*H. pylori* ist ein Klasse-1 Karzinogen, welches spezifisch das menschliche Magenepithel kolonisiert. Hierfür besitzt es eine einzigartige Nischenfunktion, in der es entzündliche Störungen (wie Ulzera, chronische Gastritis, etc.) und maligne neoplastische Krankheiten (mucosa-associated lymphoid tissue [MALT] Lymphom und Magenkarzinom) auslösen kann. *H. pylori* induziert Gastritis in allen durch ihn infizierten Patienten, allerdings leidet nur ein Bruchteil von etwa 10-15% unter klinischen Symptomen. Das Phänomen der unterschiedlichen Wirtsreaktion auf *H. pylori* ist nicht gänzlich geklärt, allerdings gibt es

Hinweise, dass individuelle genetische Voraussetzungen sowohl des Bakterienstamms als auch des Menschen für die variablen phänotypischen Erscheinungen verantwortlich sind.(15)

## **1.5 Krankheiten**

Mehr als 50% der Weltbevölkerung ist chronisch mit *H. pylori* infiziert. Die Infektion leitet stets eine chronische Entzündung der Magenschleimhaut ein, allerdings wird diese bei der Mehrheit der Patienten nicht bemerkt.(1) Obwohl die Mehrzahl der Infizierten subjektiv nicht unter den Symptomen und Konsequenzen der Infektion leidet, entsteht bei allen eine latente chronische Entzündung, und das Risiko der Weiterentwicklung bösartiger Erkrankungen ist gut untersucht.(9) Mithilfe von verschiedenen oben beschriebenen Virulenzfaktoren, gelingt es *H. pylori*, bestimmte Zellproteine so zu verändern, dass es zu einer Entzündung der Magenschleimhaut kommt. Unter den Langzeitfolgen der Infektion befinden sich die Entwicklung eines Magenkarzinoms sowie das sogenannte MALT-Lymphom. Die genauen Mechanismen, die diese Entwicklungen steuern, sind nach wie vor nicht vollständig geklärt. Wie oben bereits dargelegt, wurden in den letzten zwei Jahrzehnten zahlreiche Studien veröffentlicht, die versuchten, die komplexen Abläufe und Interaktionen zwischen Bakterium, Wirtszelle und Umweltfaktoren zu verstehen.(31)

### **1.5.1 Gastropathien**

#### **1.5.1.1 Gastritis**

Gastritis ist die Bezeichnung jeder Infiltration der Magenschleimhaut durch Entzündungszellen. Wichtig zu erwähnen ist, dass alle Gastritisformen ähnliche histopathologische Veränderungen zeigen. Grundsätzlich sollte man die akute/aktive Gastritis, die durch das granulozytäre Infiltrat gekennzeichnet ist, von der chronischen unterscheiden. Bei der chronischen Gastritis findet man per definitionem ein ausschließlich lymphoplasmazelluläres Infiltrat in der Mukosa. Da allerdings ein Entzündungsprozess zumeist ein dynamisches Geschehen darstellt, findet man sowohl aktive als auch chronische Bereiche, was durch den Terminus chronisch aktive Gastritis beschrieben wird.

Weitere Zeichen einer Gastritis sind intestinale Metaplasie, Lymphfollikel in der Mukosa, foveoläre Hyperplasie, Erosionen, Fibrose und Drüsenkörperatrophie.(32)

Eine Möglichkeit zur Einteilung unterschiedlicher Gastritis Formen ist die Sydney-Klassifikation, die den deskriptive Aspekt durch die Unterteilung der chronischen Gastritis

in „Atrophe Gastritis“ und „Nicht-Atrophe Gastritis“ in den Vordergrund stellt. Eine andere, mehr ätiopathogenetische Art der Einteilung, ist das sogenannte „ABC der Gastritis-Ätiologie“

Typ A: Autoimmun Gastritis

Typ B: Bakterielle Gastritis

Typ C: Chemisch-reaktive Gastritis

D: Diverse Gastritiden. (32)

### 1.5.1.2 Bakterielle Gastritis:

#### *Definition*

Da diese Art der Gastritis hauptsächlich von *H. pylori* verursacht wird, steht sie weitgehend synonym für eine *H. pylori* Gastritis. Mit 60-70% ist sie die häufigste Gastritis Form. Bei der *H. pylori* Gastritis besteht eine Assoziation mit dem Auftreten von gastroduodenalen Ulzera, Magenkarzinomen und MALT-Lymphomen. Der häufigste Erreger ist, wie oben beschrieben, die nicht invasive Infektion durch das gramnegative spiralförmige Bakterium *H. pylori*. Selten kann die bakterielle Gastritis auch durch *Helicobacter heilmannii*, einem 5-9 Mikrometer großen spiralförmigen Bakterium ausgelöst werden. Aufgrund von Auftreten unter Tieren wird eine primäre Zoonose vermutet.(32)

*H. pylori* bindet sich über spezifische rezeptorvermittelte Mechanismen an magentypische Foveolarepithelzellen. Deshalb ist für ihn die Kolonisierung von Dün- und Dickdarmepithel sowie von Magenschleimhaut mit intestinaler Metaplasie nicht möglich. *H. pylori* wirkt nicht invasiv, sondern entfaltet seine pathogene Wirkung vor allem vom randständigen Magenlumen aus, indem bakterielle Virulenzfaktoren (CagA, VacA, OipA) in Foveolarepithelien geschleust werden und dort zytotoxisch wirken. Zur Schleimhautschädigung kommt es durch eine gegen *H. pylori* gerichtete Entzündungsreaktion. Durch die anhaltende Immunreaktion ausgelöst durch die Persistenz der bakteriellen Antigene kommt es zu einer chronischen Gastritis, wobei das Erscheinungsbild und das Ausmaß der Entzündung durch Virulenzfaktoren des *H. pylori* Organismus und patientenbezogene genetische Merkmale mitbestimmt werden. Bei bis zu einem Drittel der Patienten mit *H. pylori* Gastritis kann man gegen H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase gerichtete Autoantikörper und autoreaktive T-Helfer Lymphozyten nachweisen. Diese entstehen durch eine Kreuzreaktion auf Basis von molekularer Mimikry.(32)

Die *H. pylori* Gastritis tritt hauptsächlich im Magenantrum auf. Weil die akute Entzündung die *H. pylori* Besiedelung meist nicht beseitigen kann, kommt es zur Persistenz. Bei persistierender Besiedelung des Erregers entwickelt sich eine chronische *H. pylori* Gastritis, die durch lymphoplasmazelluläre Entzündungsinfiltrate unterschiedlicher Intensität und durch Lymphfollikel in den basalen Anteilen der Mukosa gekennzeichnet ist. Diese erscheinen makroskopisch oft als kleine Polypen und werden endoskopisch als Gänsehautgastritis beschrieben. Oftmals wird das chronische Infiltrat im Sinne einer chronisch aktiven Gastritis durch eine granulozytäre Entzündungsreaktion überlagert.(32)

### **1.5.1.3 Schleimhautdefekte**

#### *Erosion*

„**Erosionen** sind Schleimhautdefekte, die nicht tiefer als die Muscularis mucosae reichen. Endoskopisch werden meist Schleimhautdefekte mit einem Durchmesser <5mm als Erosionen bezeichnet.“(32)

#### *Ulkus*

„Das Magenulkus (Magengeschwür) ist ein Schleimhautdefekt, der tiefer als die Muscularis mucosae reicht. Endoskopisch werden meist Läsionen, die >5mm sind als Ulzerationen bezeichnet.“(32)

Das Magengeschwür tritt bei Männern häufiger als bei Frauen auf (2:1), gehäuft jenseits des 40. Lebensjahres. Meist sind Ulzera mit einer *H. pylori* Infektion assoziiert. Genetische Disposition ist ebenfalls ein Risikofaktor. Die häufigste Lokalisation ist an der kleinen Kurvatur am Übergang zwischen Corpus und Antrum. Ulzera stellen aufgrund ihrer Komplikationen eine große Gefahr dar. Eine arterielle Blutung aus einer arrodieren Arterie kann mitunter tödlich sein. Auf dem Boden eines akuten Ulkus kann es zu einer Perforation des Magens kommen. In Folge kann es zu einer Peritonitis kommen, was wiederum ein lebensbedrohliches Krankheitsbild darstellt. Weitere Komplikationsmöglichkeiten sind Motilitätsstörungen des Magens, die nach der Abheilung eines Magenulkus infolge narbiger Veränderungen auftreten können. Sowie die maligne Entartung, wobei diese nicht fundiert nachgewiesen ist.(32)

Peptische Magen- und Duodenalgeschwüre haben sich aufgrund ihrer hohen Morbiditäts- sowie Mortalitätsrate zu einem ernst zu nehmenden Problem entwickelt.(33) 10% der Männer und ca. 5% der weiblichen westlichen Bevölkerung müssen damit rechnen, einmal im Leben an einem Ulkus zu erkranken. Das Ausmaß der Läsion, verursacht durch die

virulenten Faktoren von *H. pylori*, ist abhängig von der Konzentration und der Expositionszeit.(34) Das Leitsymptom von unkomplizierten Ulzera sind epigastrische Schmerzen, die von anderen Symptomen wie Völlegefühl, Übelkeit und Erbrechen begleitet werden. Die komplexe Pathogenese wurde intensiv untersucht und es wird vermutet, dass es sich um eine Imbalance zwischen aggressiven gastralen Faktoren wie Säure und Pepsin und Verteidigungsmechanismen der Mukosa handelt. Einen wichtigen Einfluss darauf scheint die *H. pylori* Infektion und ihre Auswirkungen auf das Gleichgewicht der schützenden und aggressiven Faktoren für die Magenschleimhaut zu haben.(33)

#### 1.5.1.4 Magenkarzinom

##### *Definition*

„Das Magenkarzinom ist ein invasiver epithelialer Tumor der Magenschleimhaut, mit in der Regel glandulärer Differenzierung. In Abhängigkeit von der Infiltrationstiefe werden Frühkarzinome von fortgeschrittenen Karzinomen unterschieden.“(32)

1. Frühkarzinome dehnen sich in der Mukosa oder Submukosa aus.
2. Fortgeschrittene Karzinome infiltrieren die Muscularis propria oder tiefere Schichten.(32)

Es gibt mehrere Einteilungsmöglichkeiten:

- Die Lokalisation beschreibt die anatomische Klassifikation: (1) kardial, (2) distal.
- Die Invasionstiefe beschreibt die Klassifikation in früh oder fortgeschritten.
- WHO-Klassifikation beschreibt nach dem histologischen Wachstumsmuster:  
Tubulär, papillär, muzinös, wenig kohäsiv
- Lauren Klassifikation:

**Intestinaler Typ:** Adenokarzinome mit tubulären Strukturen

**Diffuser Typ:** Weniger kohäsive Zellen, aufgrund von Mutationen im E-Cadherin Gen

**Mischtyp**(35)

Das Magenkarzinom ist die dritthäufigste maligne Todesursache weltweit mit fast  $\frac{3}{4}$  Million Todesfälle pro Jahr.(36),(37) Mehr als 90% der gastralen Tumore sind Adenokarzinome. Die 5-Jahre Überlebensprognose ist stark abhängig vom Diagnosezeitpunkt und der

Infiltrationstiefe. Bei Frühstadien kann sie über 95% liegen, jedoch sinkt sie sobald die Muscularis propria überschritten ist auf unter 50%.(32),(35)

Magenkarzinome sind multifaktoriell bedingt. Als Risikofaktoren gelten *H. pylori* Infektion, autoimmune Gastritis und chronische chemisch-reaktive Gastritis nach Magenteilresektion. Die *H. pylori* induzierte Schleimhautatrophie, die Erhöhung des pH Werts, sowie bestimmte Virulenzfaktoren erhöhen die Wahrscheinlichkeit, ein Magenkarzinom zu entwickeln, drastisch.(32) Die meisten Magenkarzinome (90%) treten sporadisch auf. Familiäre Häufung kann man in 10% der Fälle beobachten aber nur 1-3% sind streng erblich bedingt. Diese schließen das hereditäre diffuse Magenkarzinomsyndrom (HDGC) und das Adenokarzinom und die proximale Polypose des Magens („gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach“, GAPPS) mit ein.(38) Die Zeitspanne für die Entwicklung von einer gesunden Magenschleimhaut zu einem Magenkarzinom beträgt vermutlich 10-20Jahre. Nichtsdestotrotz werden die meisten Fälle erst im fortgeschrittenen Stadium entdeckt, weil die Krankheit lange asymptomatisch bleibt. Die Tatsache, dass eine Therapie in frühem Stadium relativ gute Heilungschancen verspricht, legt die Überlegung für einen Weg in Richtung Früherkennung nahe.(38) Landesweite Screening Untersuchungen auf *H. pylori*, um das Magenkarzinomrisiko zu senken und damit die Mortalitätsrate der Krankheit zu senken, scheinen allerdings nur in Ländern mit der höchsten Inzidenzrate wie Japan ökonomisch sinnvoll.(38)

Magenkarzinome metastasieren in erster Linie in die regionären Lymphknoten. Dabei ist vor allem die Infiltrationstiefe für die Häufigkeit der Absiedelung in Lymphknoten ausschlaggebend. Hingegen dominiert beim intestinalen Typ die hämatogene Absiedelung in die Leber.(32)

Ein präkanzeröser Prozess scheint gesichert zu sein. Der Ablauf dürfte sich so beschreiben lassen und wird sowohl begonnen von als auch durch *H. pylori* nachhaltig koordiniert. Chronisch aktive Gastritis → Chronisch atrophe Gastritis → intestinale Metaplasie → Dysplasie (intraepitheliale Neoplasie) → invasives Karzinom.(35)

#### **1.5.1.5 MALT-Lymphom**

Der Magen ist mit circa 30-45 % der Ort mit dem häufigsten Vorkommen extranodaler Lymphome. Das gastrale Lymphom, das von mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) ausgeht, ist typischerweise stark mit einer *H. pylori* positiver Infektion vergesellschaftet. Das MALT-Lymphom ist ein low-grade B-Zell Lymphom mit dichter lymphoidzelliger Infiltration. Dabei zerstören sie typischerweise Drüsenzellen und bilden auf diese Weise eine

sogenannte „lymphoepitheliale Läsion“. Diese Läsion ist pathognomonisch für ein Lymphom.

Es konnte gezeigt werden, dass *H. pylori* assoziierte Gastritis der Hauptfaktor für die MALT-Bildung ist. Folglich besteht für jeden infizierten Patienten das Risiko, während einer lebenslangen Infektion ein MALT-Lymphom zu entwickeln.(39)

### **1.5.2 Extragastrale Krankheiten**

Einige Krankheiten außerhalb des Gastrointestinaltrakts wurden in der letzten Zeit mit einer *H. pylori* Infektion in Verbindung gebracht. Hierzu gibt es einzelne Hinweise, allerdings noch kaum gesicherte Daten. Zusätzlich zur idiopathischen thrombozytopenischen Purpura, der Eisenmangelanämie und der megaloblastären Anämie, welche auch bereits in den momentanen Guidelines berücksichtigt wurden, gibt es Hinweise, dass es Vergesellschaftungen mit kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus, hepatobiliären Erkrankungen, und neurologischen Störungen zu geben scheint.(40)

## **1.6 Diagnose**

Zurzeit gibt es einige verschiedene Methoden um *H. pylori* nachzuweisen. Jede dieser Methoden ist mit ihren jeweiligen Vorteilen, Nachteilen und Grenzen ausgestattet.(41) Da die unterschiedlichen diagnostischen Verfahren ihre jeweiligen Stärken und Schwächen besitzen, liegt es an der Einschätzung einer Reihe von Faktoren, wie Zugang zu diagnostischen Tests, Notwendigkeit einer Endoskopie, Kosten, Verfügbarkeit sowie Alter und Allgemeinzustand des Patienten, das bestmögliche Verfahren auszuwählen.(41)

### **1. Invasive Verfahren**

- Kultur
- Histologie
- Urease Schnelltest

### **2. Nicht- (Minimal)-invasive Verfahren**

- Urease Atemtest
- Stuhl Antigen Test
- Serologie

### **1.6.1 Histologie**

Die Standardmethode zum Nachweis von *H. pylori* ist die Histologie, welche zusätzlich entscheidende Information über den Zustand der Schleimhaut bieten kann (zB. Vorhandensein und Ausmaß der Entzündung, intestinale Metaplasie, glanduläre Atrophie, Dysplasie oder Neoplasie). Der Goldstandard für die Entnahme von Magenbiopsien ist die aktualisierte Sydney Klassifikation, die ein Akquirieren der Biopsien von 5 verschiedenen Stellen empfiehlt. Es sollte jeweils eine Probe von der kleinen Kurvatur des Corpus ungefähr 4cm proximal zum Angulus(I), von der kleinen (II) und großen Kurvatur des Antrums (III), vom mittleren Stück der großen Kurvatur des Corpus (IV), und von der Incisura angularis (V) entnommen werden. Allerdings wird diese Empfehlung meist in der Praxis wegen der hohen Zahl an Proben nicht angewendet. Jedoch kann es durch geringere Probenanzahl zu falsch negativen Ergebnissen kommen.(41) Nachweislich sinkt die Sensitivität bei zunehmender Atrophie der Magenschleimhaut. Deshalb wird bei mittlerer bis schwerer Gastritis mit Atrophie zumindest eine zusätzliche Probe aus dem Corpus empfohlen, um falsch negative Ergebnisse zu minimieren.(42) In zwei Studien wurde es als notwendig befunden, sowohl Biopsien aus dem Antrum als auch dem Corpus zu entnehmen.(43),(44),(42),(41) Zum Nachweis von *H. pylori* in Biopsien reicht in der Regel eine Hämatoxylin und Eosinfärbung (HE-Färbung) aus. *H. pylori* erscheint als leicht gebogenes spiraliges Bakterium an der Oberfläche im Schleimhautfilm und zwischen den Schleimhautdrüsen.(41)

### **1.6.2 Kultur**

Die Bakterienkultur, die Vermehrung des Keims auf einem Nährmedium, ist nach wie vor die spezifischste Methode zum Nachweis von *H. pylori*, wenngleich die Sensitivität signifikante Schwankungen aufzeigt. Die Ergebnisse sind meist von der Qualität der Proben abhängig, angemessene Transportbedingungen und behutsame Arbeitsabläufe sind Grundbedingungen für die ordnungsgemäße Interpretation. Unter optimalen Bedingungen kann von einer Sensitivität von >90% ausgegangen werden.(45) Abgesehen von einer beinahe 100% Spezifität liegt der größte Vorteil der Bakterienkultur darin, dass darauffolgend eine Resistenztestung durchgeführt werden kann.(45)

### **1.6.3 Urease Schnelltest**

Der Urease Schnelltest macht sich die Fähigkeit des Bakteriums zum Nutzen, hohe Konzentrationen von Harnstoff zu verstoffwechseln. Dadurch kann man die Präsenz von *H.*

*pylori* indirekt nachweisen. Gewebeprobe aus dem Magen werden in ein Medium platziert, das hohe Konzentrationen von Harnstoff enthält, sowie mit einem pH Indikator versehen ist. Wenn in der Probe das Enzym Urease vorhanden ist, so wird der Harnstoff zu Kohlendioxid und Ammoniak verstoffwechselt. Die steigende Konzentration von Ammoniak bedingt einen Anstieg des pH-Werts. Der Urease Schnelltest gilt als günstig, schnell durchführbar, sehr spezifisch und ist daher weit verbreitet. Ein Nachteil ist der relativ hohe Anteil falsch negativer Resultate, wegen Veränderung der Urease Aktivität etwa durch eingenommene Medikamente.(41)

#### **1.6.4 Urease Atemtest**

Der Atemtest basiert auf der Fähigkeit *H. pylori*, oral aufgenommenen <sup>13</sup>C oder <sup>14</sup>C Harnstoff in CO<sub>2</sub> und Ammoniak umzuwandeln. Das daraus entstehende <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> oder <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> wird in Folge via den Blutkreislauf und die Lungen ausgeatmet, so dass es in der Atemluft detektierbar ist. <sup>13</sup>C ist nicht radioaktiv und kann ohne Gefahren bei Kindern angewendet werden, jedoch ist das Messgerät sehr teuer. Das radioaktive <sup>14</sup>C dagegen benötigt eine sorgfältige Anwendung in einer Nuklearmedizinischen Abteilung.(41) Sowohl Sensitivität als auch Spezifität erreichen über 90%.(46) Es kann jedoch im Gegensatz zur Serologie, bei vorhergehender Anwendung von bestimmten Medikamenten wie Antibiotika oder PPIs, zu falsch negativen Ergebnissen kommen. Der Test ist auch sehr gut geeignet, um den Erfolg einer Eradikationstherapie zu überprüfen.(41)

#### **1.6.5 Stuhl Antigen Test**

Der Stuhl Antigen Test (SAT) versucht, mittels Enzymimmunoassay Antigene gegen *H. pylori* in Stuhlproben nachzuweisen. Es ist eine zuverlässige Methode, sowohl um eine Infektion nachzuweisen, als auch um den Erfolg einer Eradikation zu überprüfen. Wichtig ist die sorgfältige Aufbewahrung, welche bei Nichteinhaltung zu falschen Resultaten führt. Sowohl Spezifität und Sensitivität liegen im Mittel über 90%, hängen aber auch stark vom verwendeten SAT Typ ab. Ein großer Vorteil des SAT ist seine einfache Anwendbarkeit bei Kindern. Ein Nachteil sind sowohl mögliche Lagerungsschwierigkeiten als auch die Verfälschung durch eingenommene Medikamente.(41)

#### **1.6.6 Serologie**

Die Methode bietet die Möglichkeit, mithilfe von IgG vermittelter Immunantwort auf Zelloberflächenstrukturen eine Infektion nachzuweisen. Eine validierte IgG Serologie ist die

einzigste diagnostische Methode, die nicht durch lokale Veränderungen des Magens verfälscht wird. Diese Veränderungen können zu verminderter Bakterienanzahl und dadurch zu falsch negativen Ergebnissen bei anderen Tests (Stuhl Antigen Test, Urease Atemtest) führen. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass Antikörper gegen *H. pylori* dauerhaft erhöht bleiben, obwohl es zu vorübergehenden Schwankungen in der lokalen Bakterienmenge kommt. Solche Abnahmen der Bakterienmenge resultieren eventuell aus der Anwendung antibakterieller Medikamente, antisekretorischer Präparate oder auch durch Blutungen von Ulzera.(47). Sensitivität und Spezifität der meisten ELISA reichen von 90-100%. Serologische Tests sind relativ günstig und leicht zugänglich und weit verbreitet. Allerdings ist eine gewisse Erfahrung notwendig, um die Ergebnisse richtig zu interpretieren. Da Antikörper oft noch längere Zeit nach der Eradikation vorhanden sind, kommt es zu falsch positiven Ergebnissen.(45) Der Test ist nicht geeignet, um den Erfolg einer Eradikationstherapie zu überprüfen.

## **1.7 Therapie**

In der Frühphase der *H. pylori* Infektion kommt es zu einer akuten Entzündungsreaktion, die meist asymptomatisch abläuft, manchmal allerdings auch von Symptomen begleitet werden kann. Die häufigsten sind Übelkeit und Erbrechen. In Folge entwickelt sich eine lebenslange chronische Gastritis.(48) Eine Aufgabe in der Forschung zu Infektionskrankheiten ist die Evaluierung einer Therapie auf Effektivität und diese entsprechend zu adaptieren.(49) Es gilt als grundlegendes Ziel, eine Therapieoption zu definieren, deren Erfolgsquote bei über 90% liegt. Es besteht das Problem, dass Resistenzentwicklungen von *H. pylori* gegenüber den meistverwendeten Antibiotika zunehmen. Es kommt dadurch zu einem Absinken der Erfolgsquote auf 70-85%, was deutlich unter dem Richtwert liegt.(50)

Gemäß den Richtlinien von Maastricht IV gelten folgende Empfehlungen zur Behandlung von *H. pylori* Infektionen:

*H. pylori* ist eine therapierbare Ursache für Dyspepsie und die peptische Ulcuskrankheit. In einer Bevölkerung mit höher/gleich 20% Prävalenz für *H. pylori* wird das Vorgehen „test & treat“ für Patienten mit noch nicht abgeklärter Dyspepsie empfohlen. Hierbei soll mittels UBT oder Stuhl Antigen Test der Nachweis einer *H. pylori* Infektion erbracht und folglich eine Eradikation eingeleitet werden. Diese Strategie darf nicht angewendet werden, wenn das Risiko des Patienten für Magenkrebs erhöht ist. Das Risiko für die Entwicklung eines Magenkarzinoms ist erhöht, wenn der Patient eine regional variierende Altersgrenze überschritten hat oder ein sogenanntes „Alarmsymptom“ aufweist. Die Alarmsymptome

sind: Gewichtsverlust, unbekannte Eisenmangelanämie, Dysphagie, Abdominalgeschwulst, oder eine offenkundige GI-Blutung. Ist der Patient entweder höheren Alters oder liegt eines oder mehrere der genannten Symptome vor, wird ein Vorgehen „endoscopy & treat“ angeraten.(47)

Als Indikation für eine Eradikationstherapie gelten folgende Diagnosen.(47)

**Tabelle 2: Diagnosen mit Empfehlung zur Eradikationstherapie (51)**

<b>Recommendation (<i>H pylori</i> positive)</b>	<b>Level of scientific evidence</b>	<b>Grade of recommendation</b>
DU/GU (active or not, including complicated PUD)	1a	A
MALToma	1c	A
Atrophic gastritis	2a	B
After gastric cancer resection	3b	B
Patients who are first degree relatives of patients with gastric cancer	3b	B
Patient's wishes (after full consultation with their physician)	5	A

DU, duodenal ulcer; GU, gastric ulcer; PUD, peptic ulcer disease; MALToma, mucosa associated lymphoid tissue lymphoma.(51)

- *Funktionelle Dyspepsie*

Zusätzlich wird eine *H. pylori* Eradikation bei funktioneller Dyspepsie empfohlen. Die erfolgreiche Therapie führt zu einer deutlichen Reduktion des Leidensdrucks. Ein Indiz dafür ist der Rückgang der Arztkonsultationen um 25% nach erfolgreicher Eradikation.(47) Die Therapie kann sowohl zu einer Erhöhung als auch einer Senkung der Säureproduktion führen. Dies ist abhängig vom Entzündungsfokus im Magen. Eine Antrum- oder nicht-atrophe Gastritis führt zu einer initialen Erhöhung der Säureproduktion. Eine Corpus- oder atrophe Gastritis hingegen führt zu einer Erniedrigung und folglich nach Eradikation zu einem Wiederanstiegen der Säurekonzentration.(47) Gastroösophageale Refluxkrankheit und *H. pylori* stehen in indirekt proportionalem Verhältnis. Trotzdem gibt es keinen Hinweis darauf, dass eine Eradikationstherapie GERD begünstigen würde.(47)

- *NSAR-Einnahme*

Bei Patienten, die eine NSAR Dauertherapie starten, ist eine Eradikationstherapie indiziert und ausreichend. Im Gegensatz dazu konnte man bei bereits längerer bestehender NSAR-Therapie keinen Benefit durch eine Eradikationstherapie nachweisen.(47)

- *Magenkarzinom*

Es gilt als sicher, dass *H. pylori* die Entwicklung von Magenkarzinomen fördert. Umstritten ist hingegen, bis zu welchem Grad eine Eradikation präventiv wirkt. Die atrophe Magenschleimhaut kann sich regenerieren, allerdings wird von einem „point of no return“ ausgegangen, der im Detail noch diskutiert wird. Intestinale Metaplasie gilt als nicht reparabel.(47)

- *MALT-Lymphom*

Für eine Eradikationstherapie bei MALT-Lymphom gilt eine starke Empfehlung. Diese Übereinkunft wurde in den letzten Guidelines immer wieder erneuert.(47)(52)(53)

Low-grade gastric marginal zone lymphoma (MALT) gilt als absolute Indikation für eine Eradikationstherapie. Zwischen 60-80% der frühen Stadien können durch diese Therapie geheilt werden.(47)

- *Extragastrale Krankheiten*

Es wird weiters empfohlen, bei extragastralen Krankheiten wie ungeklärter Eisenmangelanämie, Vit. B12 Mangel und idiopathischer thrombozytopenischer Purpura auf *H. pylori* Infektion zu untersuchen und diese zu eradizieren.(47)

## **1.7.1 Therapieoptionen**

### **1.7.1.1 Antibiotika**

- *Clarithromycin*

Clarithromycin ist ein Antibiotikum aus der Gruppe der Makrolide, das zur Behandlung von bakteriellen Infektionskrankheiten eingesetzt wird. Es eignet sich unter anderem für Infektionen des Respirationstrakts, des Hals-Nasen-Ohrenbereichs und der Haut. Es ist wirksam gegen gram-positive Kokken, insbesondere Staphylokokken und Streptokokken. Weiters besitzt es eine Aktivität gegen bestimmte gram-negative Bakterien wie *Bordetella*

*pertussis*, *Legionellen*, *Neisseria* und *H. pylori*. Clarithromycin wirkt bakteriostatisch, indem es reversibel an die 50S-Untereinheit des 70S-Ribosoms in Bakterien bindet. Dies verhindert das Weiterrücken des Ribosoms während der Elongationsphase, wodurch die Übertragung der Aminosäuren auf die Peptidketten blockiert und damit die RNA-abhängige Proteinsynthese gehemmt wird.(54) Eine Resistenzentwicklung gegenüber Makroliden erreicht *H. pylori* vermutlich durch eine Verminderung der Bindung von Makroliden an die Ribosomen. Dies betrifft dann alle Medikamente dieser Wirkstoffklasse. Weil die Bindung von Makroliden an die Ribosomen notwendig ist, um die bakterielle Proteinbiosynthese zu stören, ist dies der entscheidende Schritt für die Resistenzentwicklung. *H. pylori* Stämme erreichen diesen Affinitätsverlust von Ribosom und Clarithromycin durch eine Punktmutation in der Peptidyltransferase in 23SrRNA.(55)

- *Amoxicillin*

Amoxicillin ist ein Antibiotikum aus der Gruppe der Aminopenicilline. Amoxicillin ist bakterizid gegen grampositive und einige gramnegative Keime. Aminopenicilline haben ein vergrößertes Wirkspektrum im Vergleich zu Penicillin G. Die Wirkung beruht auf der Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese durch Inhibition der Transpeptidasen, welche an der Synthese der Peptidoglykane beteiligt sind.(54) Resistenzentwicklung von *H. pylori* gegenüber Amoxicillin ist sehr selten. Es wurde beschrieben, dass in resistenten Keimen 1 von 4 Bindungsproteinen fehlt, was die Sensibilität verringert.(56)

- *Metronidazol*

Metronidazol, ein Antibiotikum der Klasse der Nitromidazole, besitzt ein begrenztes Wirkspektrum gegen Protozoen über die meisten gram-negativen sowie gram positiven Anaerobier.(57) Durch die Elektronenübertragung auf seine Nitrogruppe provoziert es DNA Strangbrüche und eine Mutationsneigung der Bakterien.(56) In den vielen Eradikationsschemata von *H. pylori* wird auch die Anwendung von Metronidazol empfohlen.(58) Um die Wirkung auf das Bakterium zu entwickeln, muss die Nitrogruppe von Metronidazol zu Hydroxalamin reduziert werden. Der aktivierte Anteil bricht in Folge den DNA-Strang. Metronidazolresistenz wird vermutlich durch die aktive Hemmung der Reduktion der Nitrogruppe durch das Bakterium ausgelöst.(56)

- *Levofloxacin*

Levofloxacin ist ein Fluoroquinolon der zweiten Generation, ein Breitbandantibiotikum gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien. Die Hauptwirkung entfalten die Chinolone an den bakteriellen Topoisomerasen. Dabei stehen vor allem die Topoisomerase II und IV im Vordergrund. Die regelrechte Funktion dieser beider Enzyme ist für die Struktur und Funktion der bakteriellen DNA entscheidend. Es ist eine anerkannte Alternative zu Standardantibiotika für die Behandlung von *H. pylori*. Hauptsächlich wird es zur Therapie von Infektionskrankheiten des Respirationstrakts, Urogenitaltrakts und der Haut eingesetzt.(59),(54) Resistenz in *H. pylori* gegenüber Levofloxacin wurde als Punktmutation beschrieben, die mit höheren MICs assoziiert sind.(56) Mutationen in den Genen *gyrA* und *gyrB* können Veränderungen in der Aminoäuresequenz zur Folge haben. Es wurde nachgewiesen, dass diese zu einer Reduktion der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika führt.(60),(54)

#### **1.7.1.2 Protonenpumpenhemmer (PPI)**

Die Funktion von Protonenpumpeninhibitoren liegt in der Unterdrückung der Säuresekretion im Magen. Dies geschieht mittels Hemmung des Austausches von H<sup>+</sup> und K<sup>+</sup>Ionen. Aufgrund ihrer hohen Potenz werden sie breitflächig zur Bekämpfung gastroösophagealer Krankheiten, die durch zu hohe Säurekonzentration gekennzeichnet sind eingesetzt. Indikationen sind GERD, Gastritis, oder peptischen Ulzera.(61) Bei *H. pylori* infizierten Patienten mit einer Langzeit PPI-Therapie kommt es zu einer verstärkten Corpusgastritis, was eine atrophe Gastritis zur Folge hat. Die Behandlung dieser Patienten kann ein Fortschreiten dieser atrophischen Gastritis verhindern. Man muss jedoch darauf aufmerksam machen, dass es keinen Hinweis gibt, dass die Verwendung von PPIs das Risiko für Magenkarzinom reduziert.(44)

### 1.7.1.3 Eradikation

## Eradikationsschemata

### Klassische Therapie

PPI, Clarithromycin, Amoxicillin/Metronidazol

### Sequentielle Behandlung:

5 Tage PPI, Amoxicillin + 5 Tage PPI, Clarithromycin, Metronidazol

### Non-Bismuth Quadruple Therapie:

PPI, Clarithromycin, Amoxicillin, Metronidazol

### Bismuth Quadruple Therapie

Bismuth Salzen, Tetracyclin, Metronidazol

Abbildung 4: Eradikationsschemata nach Maastricht IV Consensus Report(44)

### 1.7.1.4 Bismut Quadruple Therapie

Eine weitere empfohlene Behandlung beinhaltet eine Kombination aus Bismut Salzen, Tetrazyclin und Metronidazol.(47) Sie gilt als eine mögliche Alternative zu den klassischen Eradikationsregimen, aufgrund der Zunahme von Antibiotikaresistenzen.

- **Bismut Salze** sind ein Gemisch mit einem kurzzeitigen topischen Effekt. Der Wirkmechanismus ist unbekannt, scheint aber eher antiseptisch als antibiotisch zu sein. Es wurden keine Resistenzen beschrieben.(62) Bismut Salze werden prinzipiell sowohl alleine als auch in Kombination mit Antibiotika gut vertragen. Die einzige signifikant erhöhte Nebenwirkung, die in einer Metaanalyse aus dem Jahre 2008 beschrieben wurde, waren vermehrt auftretende dunkel gefärbte Stühle.(63) Diese Therapie ist allerdings in Österreich nicht zugelassen.
- Bei **Tetrazyklin** handelt es sich um ein Antibiotikum ohne starke Resistenzentwicklung. Der Grund hierfür scheint zu sein, dass es zu 3 angrenzenden Punktmutationen kommen muss, um ein hohes Level an Resistenz zu erreichen. Die Wahrscheinlichkeit für diese Dreifachmutation in einem Organismus ist sehr niedrig, und erklärt die niedrige Resistenzrate. Eine andere Variante beschreibt einen Ausschleusungsmechanismus gegenüber Tetrazyklinen.(62)

- Der dritte Bestandteil ist **Metronidazol**. Die Resistenzrate gegen dieses Antibiotikum ist weltweit relativ hoch. Jedoch ist die klinische Relevanz nicht bedeutsam, weil sie mittels Dosissteigerung und Therapieverlängerung überwunden werden kann.(62)

### **1.7.2 Aktuelle Guidelines**

Bei den meisten bakteriellen Infektionen wird angeraten, die Therapie auf die Grundlage eines erregerspezifischen Antibiotogramms zu stellen. Kliniker erwarten eine Heilung von mehr als 95% der Infektionen durch ihre Erstlinientherapie.(64) Eine optimale Erstlinientherapie von *H. pylori* sollte eine Eradikationsrate von >90% erreichen.(65) Die aktuellen Richtlinien orientieren sich an der Resistenzrate für Clarithromycin. Als Empfehlung der Erstlinientherapie für *H. pylori* in Regionen mit einer niedrigen Clarithromycinresistenz (<15%) gilt eine Tripeltherapie (PPI, Clarithromycin, Amoxicillin und/oder Metronidazol) für 7 Tage. In Regionen mit hoher Resistenzrate (>15%) gilt die Bismuth Quadruple Therapie als Erstlinientherapie, und wenn diese nicht verfügbar ist, wird (5 Tage PPI, Amoxicillin, gefolgt von 5 Tagen PPI, Clarithromycin, Metronidazol oder Tinidazol) angeraten. Bei Therapieversagen wird als Zweitlinientherapie 10 Tage PPI, Levofloxacin und Amoxicillin empfohlen.(9),(47)

### **1.8 Antibiotikaresistenz**

Die Entwicklung von Resistenz, das heißt Unempfindlichkeit, gegenüber antibakteriellen Substanzen stellt ein natürliches Phänomen dar. Gemäß dem evolutionären Prinzip musste es nach dem Aufkommen von Substanzen mit antibakterieller Wirkung zur Entwicklung von Mechanismen kommen, welche die schädigende Wirkung dieser Substanzen einstellen oder abschwächen.(66)

## 1.8.1 Resistenzarten

Tabelle 3: Resistenzarten nach Aktories (54)

### Natürliche Resistenz:

Unempfindlichkeit von allen Stämmen einer Spezies gegen bestimmte Antibiotika.

### Mutationsbedingte Resistenz:

1. Spontan, ohne Kontakt mit Antibiotikum.
2. Sekundär, unter Selektionsdruck einer Therapie auftretend, erworbene Resistenz.

### R-Plasmid bzw. Transposon Resistenz:

Durch Vermittlung von Plasmide oder Prophage kommt es zum Austausch von Information und Resistenzen unter den Bakterienstämmen.

Die Mechanismen der Resistenzentwicklung gegenüber klassischen Antibiotika sind auf molekularer Ebene relativ gut verstanden. Sie waren in den letzten Jahren Gegenstand intensiver Forschung.(64) In Europa lässt sich allgemein ein Nord-Süd Gefälle nachweisen. Die Resistenzraten gegenüber Clarithromycin von *H. pylori* Stämmen in Nordeuropa sind <5% während sie sich in Südeuropa auf über >20% belaufen. Grund für eine Resistenzentwicklung ist zum Beispiel eine vorausgegangene Anwendung von Makrolidantibiotika. Der ansteigende Verbrauch von Antibiotika in der Pädiatrie steht in direkter Proportionalität mit der Resistenzentwicklung in dieser Altersschicht.(67) Die Prävalenz von *H. pylori* Resistenz gegenüber Metronidazol schwankt laut Studien zwischen 20-40% in Europa und USA bis hin zu 50-80% in Entwicklungsländern. Vermutlich ist dieser Umstand der hohen Anwendung zur Behandlung von parasitären Erkrankungen in tropischen Ländern zu zuschreiben. Im Falle eines Therapieversagens sollte bei der Zweitbehandlung auf ein Schema zurückgegriffen werden, in dem zuvor verwendete Antibiotika vermieden werden. Nach erfolgreicher Eradikationstherapie liegt die Reinfektionsrate bei <1%/Jahr.(67)

Um die Wirksamkeit von Antibiotika nachzuweisen, wird ein Antibiogramm durchgeführt. Dabei wird die Aktivität des Wirkstoffs gegenüber den Mikroorganismen gemessen. Der hierfür bestimmte Wert ist der MHK, die minimale Hemmkonzentration. Es wird davon ausgegangen, dass Bakterien, denen es möglich ist, hohe Konzentrationen von Antibiotika zu tolerieren, Mechanismen entwickelt haben, den toxischen Effekt des Antibiotikums zu umgehen. Die Wirkmechanismen der Antibiotika klassifizieren die jeweilige Antibiotikagruppe. Die häufigsten beeinflussen die Proteinsynthese, ribosomale Abläufe, die Zellwandsynthese oder etwa die DNA Replikation.(56)

## Antibiogramm

Um das Antibiogramm für *H. pylori* zu erstellen, werden E-Test Streifen von AB Biodisk verwendet. Diese stellen eine anerkannte Methode dar, um die minimale Hemmkonzentration zu bestimmen.(68) Ein E-Test ist ein dünner, nicht poröser Kunststoffstreifen. Eine Seite des Streifens ist mit der MHK-Skala in mg/l und einem 2 bis 3lettrigem Buchstabencode des Antibiotikums versehen. Ein vordefinierter exponentieller Gradient der Wirkstoffkonzentration ist getrocknet und stabilisiert auf der Gegenseite des Streifens aufgetragen.(69) Dieser E-Test wird auf die Oberfläche der Agarplatte aufgetragen, auf welcher zuvor eine Keimsuspension aufgebracht wurde. Durch die Wirkung der Substanz auf den Keim kommt es zu einer Wachstumshemmung und folglich zu einer geringeren Kolonisierung in diesem Bereich. Es entsteht eine keimfreie Zone rund um den Teststreifen. Da die Wirkung abhängig ist von der Konzentration des Antibiotikums, ist dieser Hof größer an der Stelle, wo der Streifen mit einer höheren Konzentration versetzt ist. Es entsteht ein elliptisches Erscheinungsbild. An dem Punkt, wo der Rand der minimalen Hemmung den Teststreifen kreuzt, kann man die minimale Hemmkonzentration ablesen. Diese Methode wird im Zusammenhang mit vielen verschiedenen Organismen benützt und die Ergebnisse wurden als exakt und reproduzierbar befunden.(68)



Abbildung 5: Antibiogramm; E-Test Streifen auf Agar Platte (69)

MHK Werte werden durch eine Reihe von Faktoren beeinflusst. Einige dieser Einflüsse sind die Zusammensetzung des Nährmediums, die Größe des Inokulums, die Inkubationszeit, sowie die Präsenz von resistenten Keimen. Bereits kleine Veränderungen im pH Wert können zu starken Auswirkungen auf die MHK Werte führen.(70) Studien belegen, dass etwa Clarithromycin bei pH Werten zwischen 7,0-7,4 bakterizid wirksam ist, bei 6,5 hingegen nur bakteriostatisch agiert.(71)

## *EUCAST*

Die Institution EUCAST, „European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing“ ist eine europäische Institution mit dem Ziel, antimikrobielle Breakpoints zu definieren und die Resistenztestung zu standardisieren. EUCAST wird von der „European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases“ (ESCMID) und dem „European Centre for Disease Prevention and Control“ (ECDC) beaufsichtigt. Eine Expertenkommission von 9-13 Mitgliedern bekleidet für 2 Jahre den Lenkungsausschuss, das Entscheidungsorgan von EUCAST. Diese setzt einzelne Unterausschüsse ein, die bestimmte Themen ausarbeiten und 4-5-mal pro Jahr für neue Entscheidungssitzungen zusammenkommen. Klinische Grenzwerte werden in mikrobiologischen Laboratorien benötigt, um einzelne Organismen in „S“ sensibel, „I“ intermediär oder „R“ resistent gegenüber einem Antibiotikum einzuteilen. Entsprechend dem Ergebnis der Resistenztestung und der Interpretation der Grenzwerte kann von einer erfolgreichen Therapie oder einem Therapieversagen ausgegangen werden. Ein Mikroorganismus wird als „S“ Sensibel bezeichnet, wenn mit einer hohen Wahrscheinlichkeit von einem therapeutischen Erfolg ausgegangen werden kann. Gegengleich wird ein Mikroorganismus als „R“ wie resistent bezeichnet, wenn mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Therapieversagen eintreten wird.

In Europa werden diese Grenzwerte von EUCAST nach einem genau definierten Prozess entwickelt. Die Ermittlung der Grenzwerte beinhaltet verschiedene Faktoren. Resultate aus verschiedenen Studien, Wildtyp, MHK Verteilungen für bestimmte Keimspezies, Dosierung sowie pharmakokinetische und pharmakodynamische Aspekte werden miteinbezogen und meist mithilfe der Monte Carlo Simulationsmethode statistisch ausgewertet. Ziel von EUCAST ist die Qualitätssicherung der in-vitro Resistenztestung. Dies soll einerseits durch standardisierte Verfahrensmethoden geschehen, um die Ergebnisse valide vergleichen zu können. Andererseits soll es zu einer Vereinheitlichung der Grenzwerte auf einer datengesicherten Basis kommen. EUCAST ist eine unabhängige Organisation und laut eigenen Angaben kommen keine monetären Zuwendungen von industriellen Unternehmen.(72) (<http://www.eucast.org/organization/eucaststatutes/>)

## *Aktuelle Situation*

Die Prävalenz von *H. pylori* Antibiotikaresistenz nimmt weltweit zu. Diese steigenden Zahlen sind der Hauptfaktor für die Effizienzeinbußen der aktuellen Therapieschemata.(73) Wie bereits beschrieben, wurden im Maastricht IV/Florence Consensus Report 2012 neue Guidelines für die Behandlung von *H. pylori* erstellt. Eine wichtige Aussage lautet, dass in Regionen mit hoher Clarithromycinresistenz von >15-20% die Erstlinientherapie verändert werden sollte.

*„First-line treatment.*

*Statement 16: In areas of high clarithromycin resistance, bismuth-containing quadruple therapies are recommended for first-line empirical treatment. If this regimen is not available, sequential treatment or a non-bismuth quadruple therapy is recommended.*

*Evidence level: 1a Grade of recommendation: A“(47)*

## *Studienhypothese*

Aufgrund dieser Empfehlung ist der grundlegende Parameter die regionale Prävalenzrate für Clarithromycin resistente *H. pylori* Stämme. Bei der Recherche nach vorliegenden Daten für Österreich wurde eine begrenzte Datenmenge offensichtlich. Die aktuellste Studie zur Resistenzentwicklung von *H. pylori* in Europa ist von Megraud et al.(74) Diese Studie zeigte für Österreich für Clarithromycin eine Resistenzrate von 36,6%, die höchste in allen teilnehmenden Ländern, sowie 23,3% für Levofloxacin.(74) Im zeitlichen Verlauf zu den Voruntersuchungen 23,4% für Clarithromycin im Jahre 1998 (75), lässt sich ein deutlicher Anstieg der Resistenzrate beobachten. Das Ergebnis müsste gemäß den Guidelines eine Veränderung der Erstlinientherapie nach sich ziehen. In beiden Studien wurde allerdings stets nur ein Zentrum in Österreich eingeschlossen, weshalb man nicht von repräsentativen Werten für ganz Österreich ausgehen kann. Unser Ziel ist es deshalb, wie von Megraud et al. angeraten (74), mittels einer repräsentativen Probenzahl eine Aussage zur Resistenzrate von *H. pylori* in der Steiermark und in Kärnten zu treffen. Die grundlegende Hypothese für die Studie ist, dass sich die Primärresistenz von *H. pylori* signifikant von den kürzlich veröffentlichten Daten unterscheidet.(74)

## 2 Material und Methoden

Um die Fragestellung nach der Antibiotikaresistenzrate von *H. pylori* für die Regionen Steiermark und Kärnten in Österreich zu beantworten, wurde das Projekt “Primary Helicobacter pylori resistance to antibiotics in Southern Austria” entworfen.

Das Projekt wurde in Form einer multizentrischen prospektiven Studie ohne Intervention im Jänner 2014 gestartet. Der Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz genehmigt. Die Patienten der Studie wurden in verschiedenen Krankenhäusern der Steiermark sowie Kärntens sowie von mehreren niedergelassenen Ärzten im selben Gebiet rekrutiert. Die teilnehmenden Zentren waren: BHB Marschallgasse und Eggenberg Graz, Universitätsklinik für Innere Medizin Graz, Krankenhaus der Elisabethinen Graz, BHB St. Veit/Glan, LKH Rottenmann; die niedergelassene Fachärzte: Dr. Mörth, Dr. Pavsek, Dr. Parsch, Dr. Semlitsch. Von den Patienten wurde eine Einwilligungserklärung eingeholt. Einschlusskriterien für die Studie waren: ein Mindestalter der Patienten über 16 Jahre und die Unterzeichnung der Einwilligungserklärung.

Im Zuge einer Routinegastroskopie wurden 2 zusätzliche Biopsien aus der Magenschleimhaut gewonnen, jeweils eine aus dem Corpus und eine aus dem Antrum. Die Proben wurden sofort in einem Transportmedium (Portagerm Port-pyl bioMérieux, Wien, Österreich) an das mikrobiologische Labor der Sektion für Infektiologie und Tropenmedizin der Universitätsklinik für Innere Medizin an der Medizinischen Universität Graz gesendet. Der Transport erfolgte bei Raumtemperatur.

Die Proben wurde mittels sterilem Glasspatel auf einem PYL Selektiv Medium für *H. pylori* (bioMérieux, Wien, Österreich) ausgequetscht und auf einer Schädler Agarplatte BD (Becton Dickinson Heidelberg Deutschland) mit einem sterilem Glasspatel aufgetragen. Der Rest der Probe kam zur Konservierung auf einen ein Plastikröhrchen, das bei -70°C eingefroren wurde.

Die Agarplatten wurden in einem CO<sub>2</sub> haltigen Brutschrank bei 35°C in einem mikroaerophilen Klima (7,4%CO<sub>2</sub>) 3 Wochen lang bebrütet. Es erfolgte 2mal wöchentlich eine Kontrolle auf Wachstum. Die *H. pylori* Kolonien zeigen sich morphologisch als kleine ca. 0,3mm im Durchmesser transparente Punkte. Die Färbung erfolgte mittels Gramfärbung und die Diagnostik unter dem Mikroskop.

Bei positivem Resultat wurde eine Resistenztestung gegen die üblichen Antibiotika angeschlossen. Es wird ein Antibiotogramm mittels Etest® (bioMérieux Wien Österreich)

erstellt. Um die Suspension zu erzeugen, wurde *H. pylori* bei einer Dichte von McFarland 3 in eine Kochsalzlösung eingerührt. Das Ergebnis konnte nach 2-3 Tagen abgelesen werden. Die getesteten Antibiotika waren Moxifloxacin, Doxycyclin, Rifampicin, Levofloxacin, Clarithromycin, Metronidazol, Tetracyclin und Amoxicillin. Die Bewertung zur Sensibilität erfolgte auf Basis der Guidelines von EUCAST (European Committee of Antibiotic Susceptibility Testing) und der definierten MHK Grenzwerte.

## MHK-Breakpoints

Tabelle 4: MHK Grenzwerte nach EUCAST (76)

	<u>Sensibel</u>	<u>Resistent</u>
Amoxicillin	≤ 0,12 mg/L	> 0,12 mg/L
Levofloxacin	≤ 1 mg/L	> 1 mg/L
Clarithromycin	≤ 0,25 mg/L	> 0,5 mg/L
Tetracyclin	≤ 1 mg/L	> 1 mg/L
Metronidazol	≤ 8 mg/L	> 8 mg/L
Rifampicin	≤ 1 mg/L	> 1 mg/L

([http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/Breakpoint\\_table\\_v\\_4.0.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Breakpoint_table_v_4.0.pdf))

## Statistik

Für die Dateneingabe und Analyse der Ergebnisse wurden „Microsoft Excel“ sowie das Softwareprogramm „Statistical Package for Social Sciences“ (SPSS) der Version 22 benutzt. Für die Berechnungen verwendeten wir den Kolmogorov-Smirnov, den Mann-Whitney U Test, Cramer V, Phi. Die statistische Signifikanz wurde durch eine zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit  $p=0,05$  festgelegt

### 3 Ergebnisse – Resultate

#### 3.1 *Gesamtes Patientenkollektiv*

Im Zeitraum vom 13.8.2013 - 9.10.2014 wurden 777 Patienten in die Studie eingeschlossen. Von diesen waren 336 (43,2%) männlich und 441 (56,8%) weiblich. Das Patientenkollektiv hatte ein mittleres Alter von 54,6 Jahren mit einer Standardabweichung von 16,4 Jahren. Der Median der Gesamtpopulation lag bei 56 Jahren. Die Altersspannweite erstreckte sich von 16-91 Jahre. Von den 777 Patientenproben zeigten 102 (13,1%) ein Keimwachstum und 675 (86,9%) ein negatives Kulturergebnis. Bei einem Probanden war nach einem positiven Kulturergebnis die Kultur nicht weiter anzüchtbar und daher kein Antibiotogramm mehr möglich. Weil das Ergebnis daher für uns nicht verwertbar war, wurde die Probe aus der weiteren Analyse exkludiert. Die Proben wurden in 11 verschiedenen Einrichtungen gewonnen. Die Proben verteilen sich gemäß Abb. 6 auf die einzelnen Einsender. Die meisten Proben stammen aus dem Krankenhaus BHB St. Veit (39,9%) und von Dr. Semlitsch (22,3%).

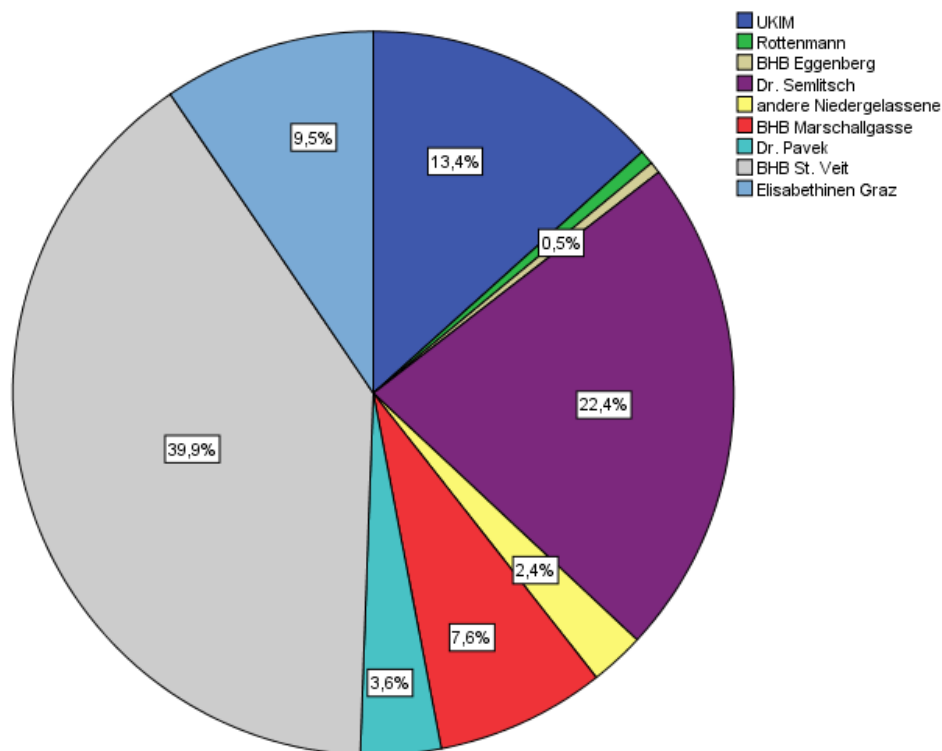


Abbildung 6: Verteilung der Biopsien nach Einsendern (n=777)

Die beiden häufigsten Indikationen für die Gastroskopie waren, wie man in Abb.7 erkennen kann, Dyspepsie mit 36,2% und Reflux mit 16,6%.

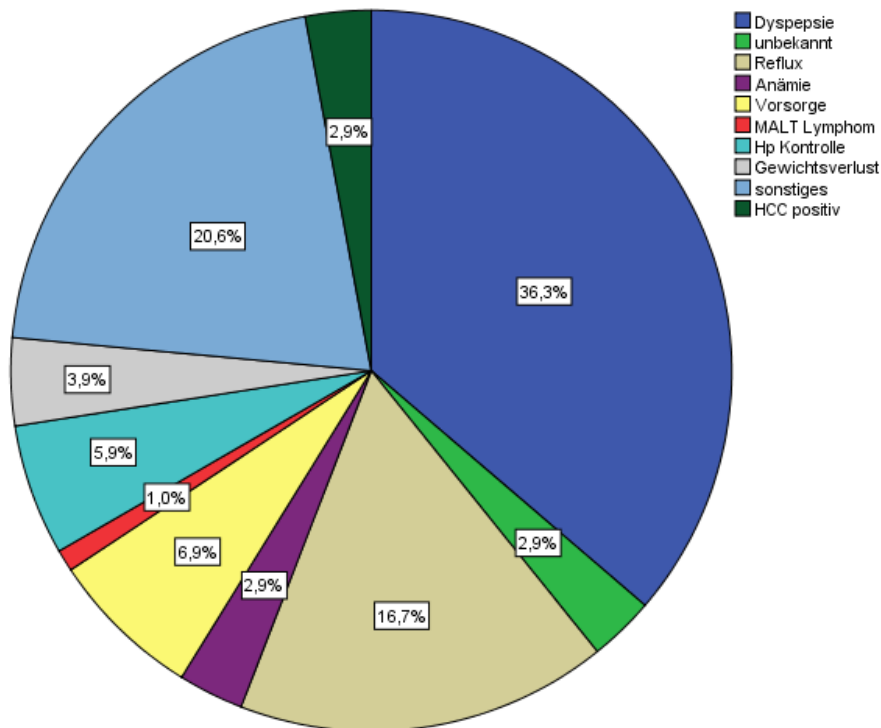


Abbildung 7: Indikationen für die ÖGD (n=777)

### 3.2 *H. pylori* positive Patienten

Das Patientenkollektiv, dessen *H. pylori* Kultur positiv bewertet wurde, besteht aus 102 Patienten (13,1%). Von diesen 102 waren 46 (45,1%) weiblich und 56 (54,9%) männlich. Das Alter betrug im Mittel 52,9 Jahre bei einer Standardabweichung von 14,1 Jahren sowie einem medianen Alter von 53 Jahren. Der jüngste Proband dieser Population war 17 und der älteste 86 Jahre alt. In Abb.8 kann man ablesen, wie sich die Gruppe mit positivem Kulturergebnis nach der Herkunft der Eltern aufteilt. Die *H. pylori* positiven jeden Einsenders, gerechnet auf die Gesamtzahl der Einsendungen pro Einsender, ergab für UKIM 22,1%, Rottenmann 20%, BHB Eggenberg 50%, Dr. Semlitsch 9,2%, andere Niedergelassene 52,6%, BHB Marschallgasse 8,5%, Dr. Pavsek 27,6%, BHB St. Veit 10%, Elisabethinen Graz 8,1%. In Abb.9 werden die makroskopischen Befunde der Gastroskopien gezeigt. Gastritis war mit 36,6%, die am häufigsten attestierte Diagnose.

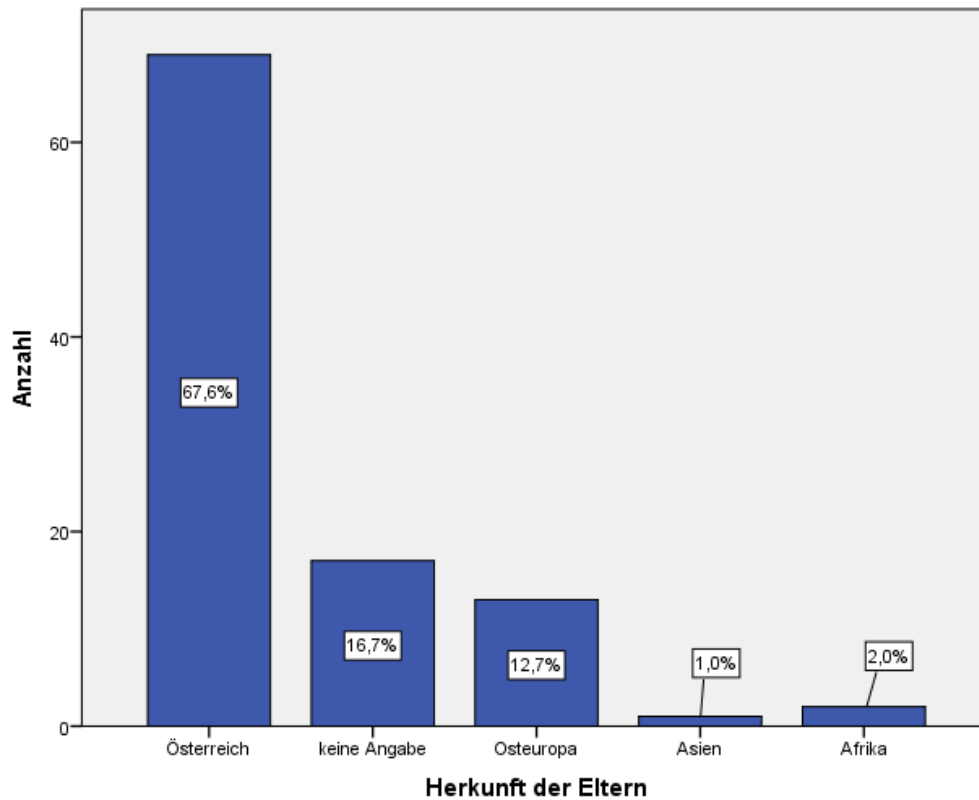


Abbildung 8: Verteilung der Herkunftsländer bei *H. pylori* positiven Patienten. (n=102)

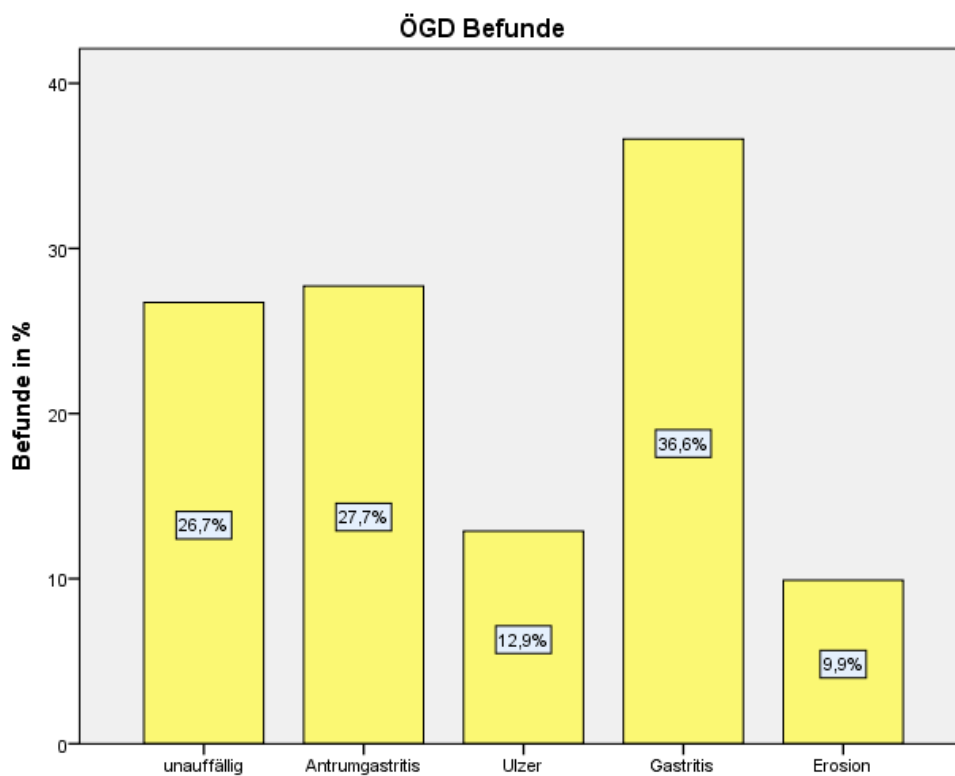


Abbildung 9: Befunde der Gastroskopen bei *H. pylori* positiven Patienten (n=102)

Abb.10 zeigt das Alter der *H. pylori* positiven Patienten im Vergleich mit *H. pylori* negativen Patienten. Es gab keinen signifikanten Unterschied.

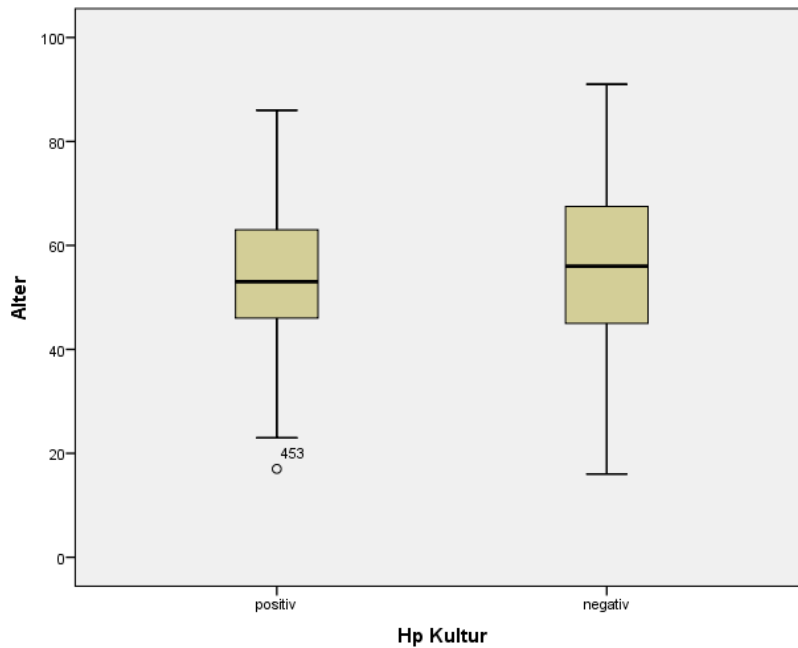


Abbildung 10: Vergleich der *H. pylori* positiven und negativen Gruppe nach ihrem Alter gegenübergestellt.

In den Abb.11-14 werden in Histogrammen die exakten minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) der einzelnen E-Tests nach den einzelnen Wirkstoffen dargestellt. Die Trennlinien geben hierbei die breakpoints nach EUCAST an und veranschaulichen die Häufigkeitsverteilung für einzelne Konzentrationen. Bei dieser Darstellung ist mitunter auch eine Tendenz abseits der harten cut-off Werte zu erkennen. Für Clarithromycin zeigt sich eine deutliche Diskrepanz zwischen klar resistenten und hoch sensiblen Keimen. Dagegen kann man bei Rifampicin eine Häufung im Bereich des Grenzwerts von 1 mg/L beobachten. Metronidazol und Levofloxacin zeigen kein eindeutiges, sondern eher ein sporadisches Verteilungsergebnis.

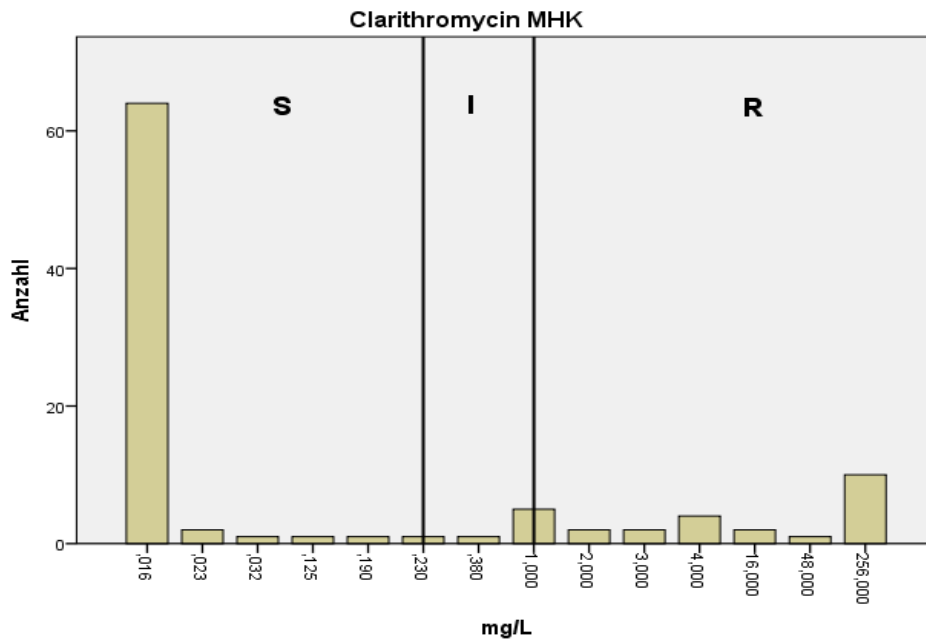


Abbildung 11: Clarithromycin n=102; MHK S≤0,25 R>0,5mg/L breakpoint nach EUCAST(77)

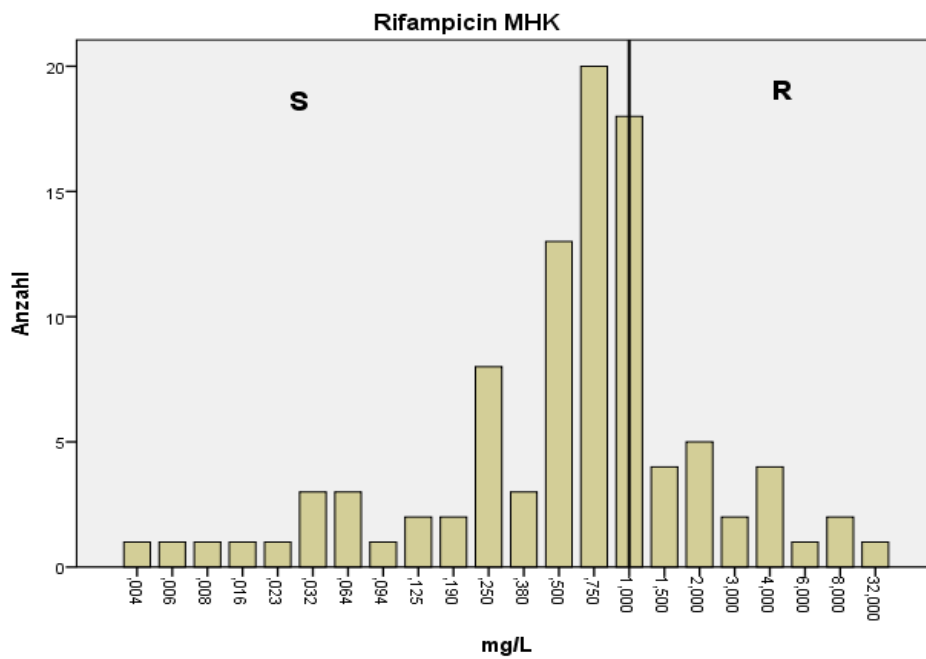


Abbildung 12: MHK Werte von Rifampicin S≤1; R>1(77)

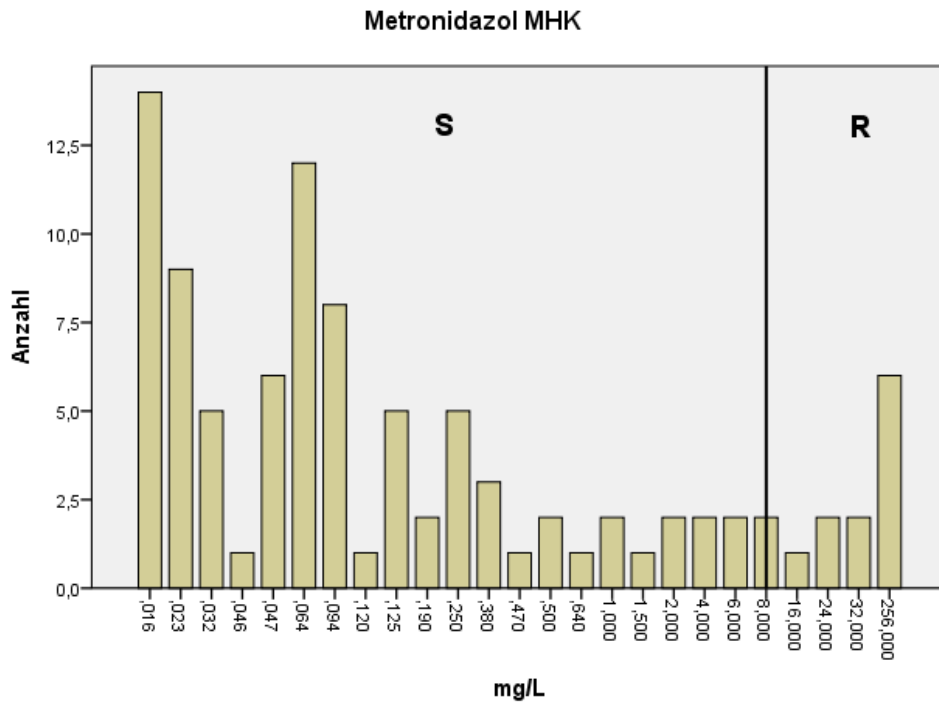


Abbildung 13: MHK Werte von Metronidazol S≤8; R>8 (74)

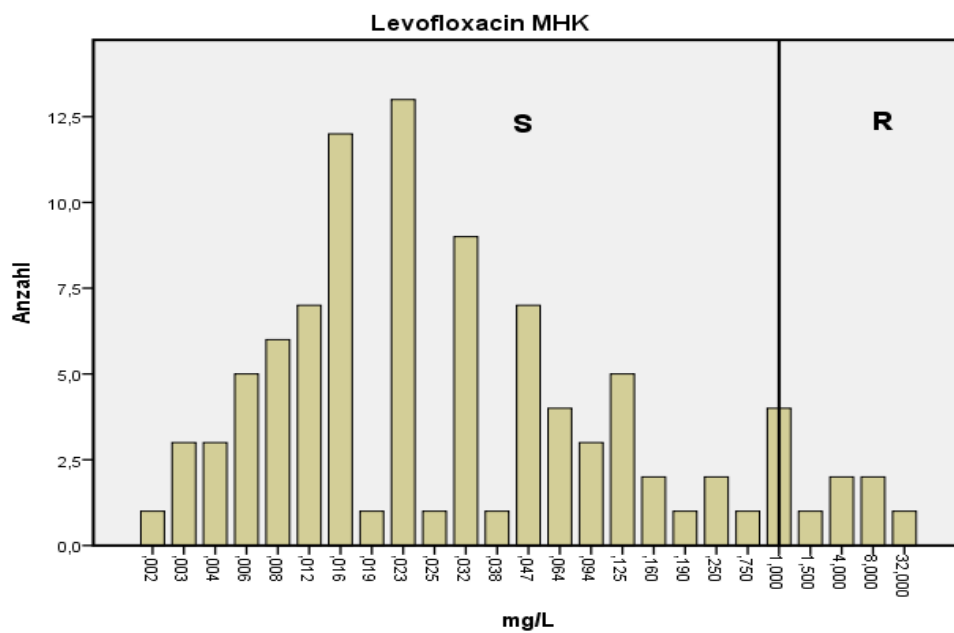


Abbildung 14: MHK Werte von Levofloxacin S≤1; R>1 (74)

### Primärresistenz und Sekundärresistenz

Die Patienten wurden gemäß ihrer Anamnese in zwei verschiedene Gruppen eingeteilt. Die eine hatte noch nie eine Eradikationstherapie erhalten (Primärresistenz), die Patienten der

anderen waren bereits mindestens einmal eradiziert worden (Sekundärresistenz). Zum Zeitpunkt der Gastroskopie waren 21 Patienten (20,6%) mindestens 1-mal bereits wegen *H. pylori* therapiert worden, während 81 (79,4%) noch keine Eradikationstherapie erhalten hatten. Die Ergebnisse der E-tests bezüglich der Resistenz der *H. pylori* Stämme gegenüber den einzelnen Antibiotikawirkstoffen werden in den Abb.15 und Abb.16 dargestellt. Dabei wird unterschieden, ob der Patient bereits eine Eradikationstherapie erhalten hat (Abb.16) oder noch nie auf *H. pylori* behandelt wurde (Abb.15). Doxycyclin wurde hierbei in 5 Fällen nicht getestet. Bei Primärresistenz war die Fallzahl für Doxycyclin daher n=79 und für die Sekundärresistenz n=18. 16 Patienten hatten mehrfach resistente Keime. Das sind *H. pylori* Stämme die gegen 2 oder mehr Antibiotika gleichzeitig resistent sind.

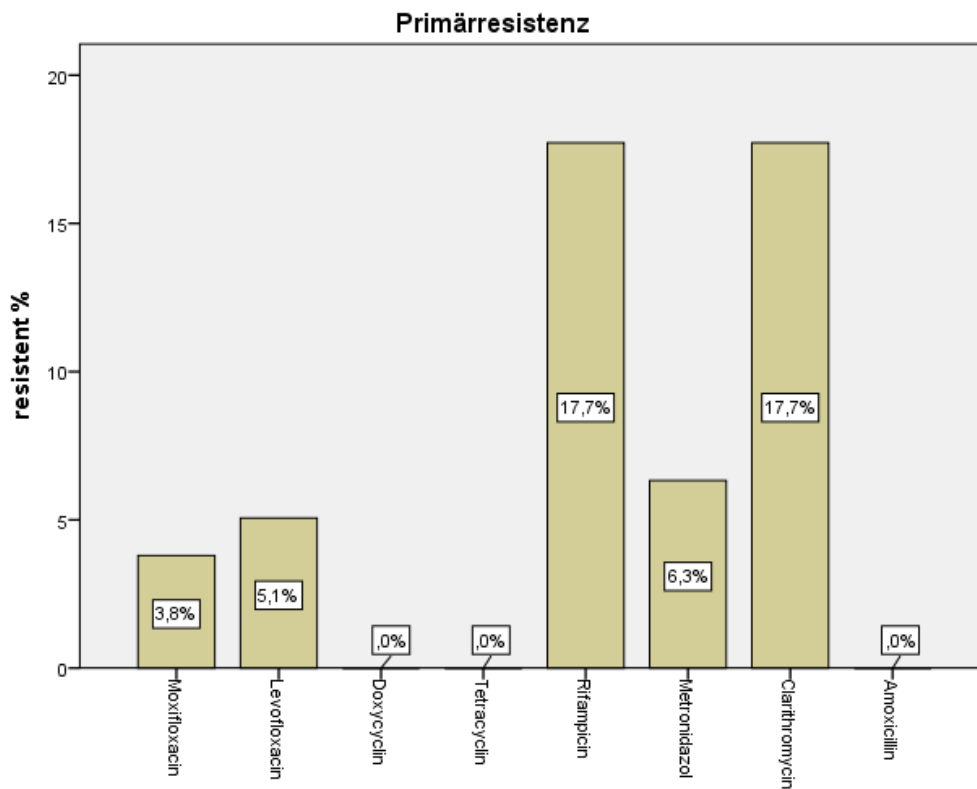


Abbildung 15: Primärresistenz n=81

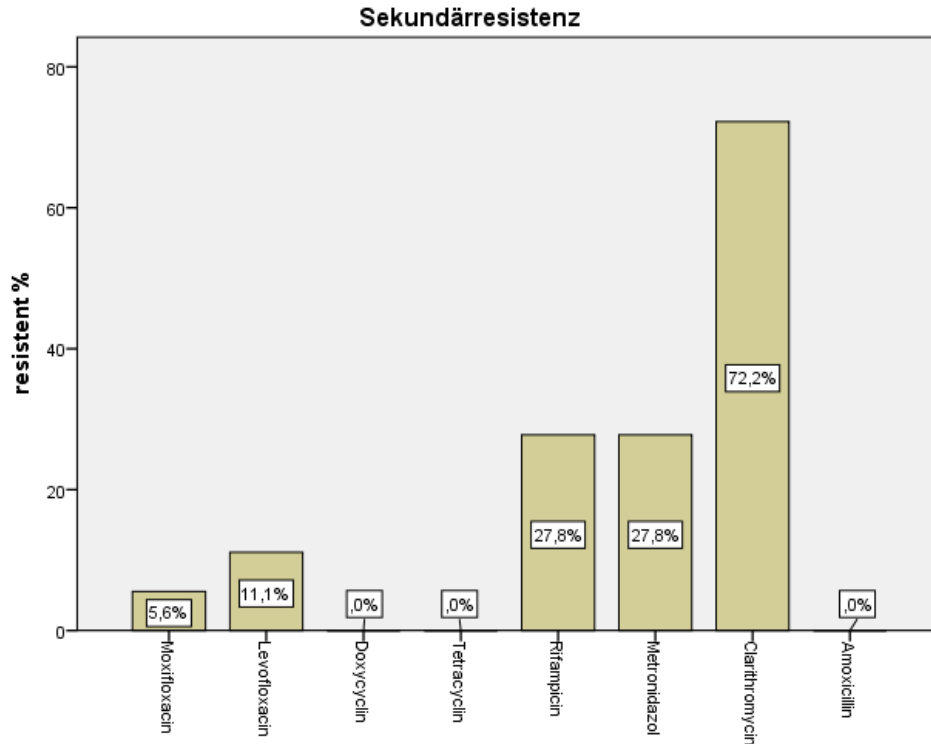


Abbildung 16: Sekundärresistenz n=21

Für unsere Fragestellung wollten wir die Patienten, die ein positives *H. pylori* Ergebnis aufwiesen, untereinander vergleichen. Von besonderem Interesse war für uns, ob es Unterschiede zwischen den Populationen, die mit einem resistenten *H. pylori* Stamm infiziert waren und die eine sensible Keimbesiedelung aufwiesen gab. Daher untersuchten wir die beiden Gruppen „resistent“ und „sensibel“ bezüglich einiger Faktoren. In einem ersten Schritt führten wir eine Überprüfung der Normalverteilung auf die gesamte Studienpopulation bezüglich des Alters durch. Das Alter der gesamten Stichprobe ist nicht normalverteilt. Der Kolmogorov-Smirnov Test ergab  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ). Damit muss ein nicht-parametrischer Test angewendet werden, wir verwenden hierzu den Mann Whitney U-Test.

### 3.2.1 Clarithromycin sensibel vs. Clarithromycin resistent

- Es zeigt sich, dass sich die beiden Gruppen bezogen auf das Alter signifikant voneinander unterscheiden. Patienten mit einem Clarithromycin resistenten Keim waren signifikant jünger (49,2 Jahre) als Patienten mit einem sensiblen *H. pylori* Stamm (54,5 Jahre). ( $p=0,035$ ). Und einem medianen Alter von: 47 vs. 57 Jahren.
- Bei Clarithromycin konnte kein signifikanter Geschlechterunterschied beobachtet werden. ( $p=0,197$ )

- Es gab keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Herkunft der Eltern. (p =0,111) siehe Abb.17
- Hingegen konnte festgestellt werden, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Infektion mit einem resistenten *H. pylori* Stamm gegen Clarithromycin und einer zuvor stattgehabten Eradikationstherapie besteht. 51,7% der Patienten mit einem Clarithromycin resistenten *H. pylori* hatten bereits eine Eradikationstherapie erhalten, hingegen hatten nur 8,2% der Patienten mit einem Clarithromycin sensiblen *H. pylori* bereits eine Therapie erhalten. (p<0,001)
- Die Gruppen „sensibel“ und „resistent“ gegen Clarithromycin unterscheiden sich signifikant in Bezug auf Antibiotikatherapie in den letzten 6 Monaten (p=0,024). Patienten mit einem Clarithromycin resistenten Keim waren signifikant häufiger (28,6%) zuvor mit Antibiotika behandelt worden als Patienten mit einem sensiblen *H. pylori* Stamm (8,2%).
- Es gibt jedoch keinen signifikanten Unterschied bei Betrachtung des Nikotinabusus (p=0,29) und hinsichtlich der Angaben zu Asthma bronchiale (p=0,074) zwischen Patienten mit Clarithromycin resistenten und Clarithromycin sensiblen *H. pylori* Keimen.
- In unserer Studie waren 13,8% der Patienten mit einer gastroscopisch befundeten Gastritis von einem resistenten *H. pylori* Keim besiedelt, dagegen waren 45,8% der Patienten mit Gastritis von einem Keim besiedelt, der sensibel gegen Clarithromycin reagierte. Dies stellt statistisch einen signifikanten Zusammenhang zwischen Sensibilität und Gastritis dar. (p=0,002)  
Im Gegensatz dazu konnten wir zeigen, dass 41,4% der Patienten mit einer isolierten dominierenden Antrumgastritis von einem resistenten *H. pylori* besiedelt waren hingegen nur 22,2% von einem sensiblen Keim. Dies ist ein grenzwertiger Zusammenhang. (p=0,052)

Tabelle 5: Wahrscheinlichkeiten eines Zusammenhangs zwischen einem resistenten Keim und einer bestimmten Diagnose.

Gastroskopie	Clarithromycin sensibel vs. resistent
unauffälliger Befund	p=0,191
Antrumgastritis	p=0,052
Ulzera	p=0,630
Gastritis	<b>p=0,002</b>
Ösophagitis	p=0,165
Erosion	p=0,406

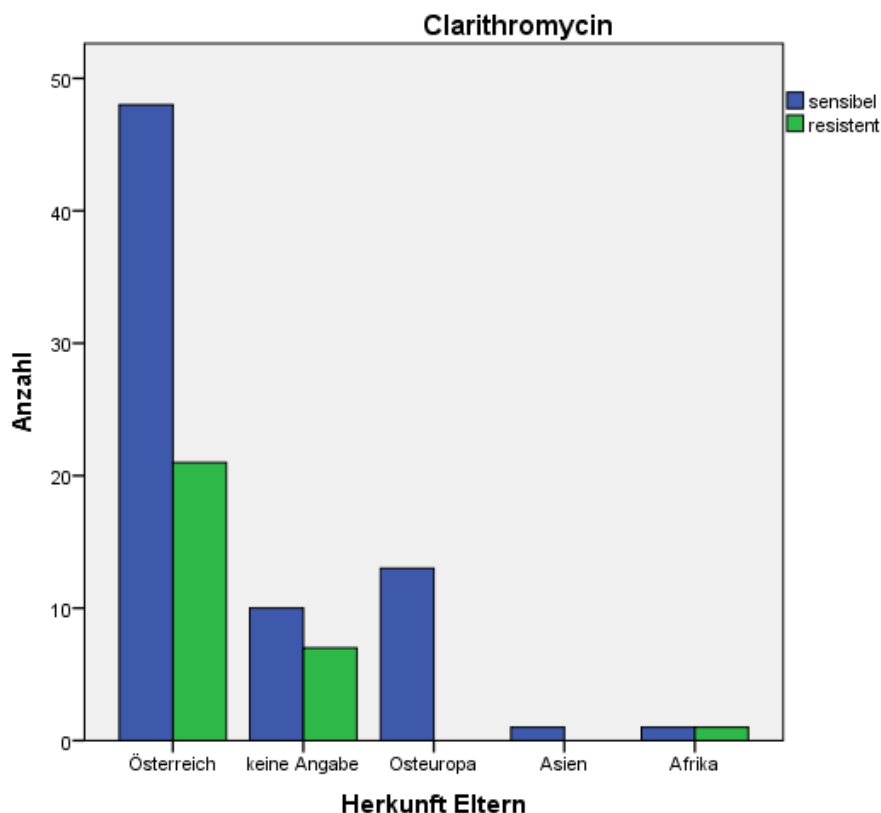


Abbildung 17: Häufigkeit der sensiblen und resistenten *H. pylori* Kulturen gegen Clarithromycin nach Herkunft der Eltern. (n=102)

### 3.2.2 Rifampicin sensibel vs. Rifampicin resistent

In einem zweiten Schritt wendeten wir das gleiche Analyseverfahren auf die Patientengruppen an, die mit einem *H. pylori* Stamm infiziert waren, welcher auf Rifampicin entweder sensibel oder resistent reagierte.

- Es zeigt sich, dass sich die beiden Gruppen bezogen auf das Alter nicht signifikant voneinander unterscheiden. (55,7 Jahre vs. 52,3 Jahre) (p=0,336)

- Wir konnten jedoch einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem männlichen Geschlecht und der Rifampicin Resistenz feststellen. 15 Keime von männlichen Patienten(26,8%) und nur 5 *H. pylori* von weiblichen Patienten(10,9%) waren resistent gegen Rifampicin.( $p=0,044$ )
- Bei den Rifampicin resistenten konnte kein signifikanter Zusammenhang mit einer zuvor erfolgten Eradikationstherapie dargestellt werden ( $p=0,246$ )
- Ebenso besteht kein signifikanter Unterschied bei den Gruppen, die gegen Rifampicin sensibel oder resistent reagierten, betreffend dem Herkunftsland der Eltern. ( $p=0,812$ )
- Weiters befragten wir die beiden Gruppen auf Unterschiede in den Bereichen des Nikotinkonsums, der Krankheit Asthma bronchiale und auf Antibiotikaverwendung in den letzten 6 Monaten. In keinem dieser Bereiche konnten wir eine sich signifikant unterscheidende Verteilung beobachten. Die Ergebnisse zeigten entsprechend folgende Werte. ( $p=0,140$ ;  $p=0,150$ ;  $p=0,525$ )
- Wir konnten bei Rifampicin keine statistisch signifikante Häufung zwischen einem gastrokopischen Befund und dem Auftreten von Resistenz beobachten.

**Tabelle 6: Wahrscheinlichkeiten eines Zusammenhangs zwischen einem Rifampicin resistenten Keim und einer bestimmten Diagnose.**

Gastroskopie	Rifampicin sensibel vs. resistent
unauffälliger Befund	$p=0,448$
Antrumgastritis	$p=0,799$
Ulzera	$p=0,751$
Gastritis	$p=0,866$
Ösophagitis	$p=0,701$
Erosion	$p=0,987$

In Tab.7 und Tab.8 kann man die entsprechenden Kreuztabellen mit den einzelnen Häufigkeiten und prozentuellen Verteilungen ablesen.

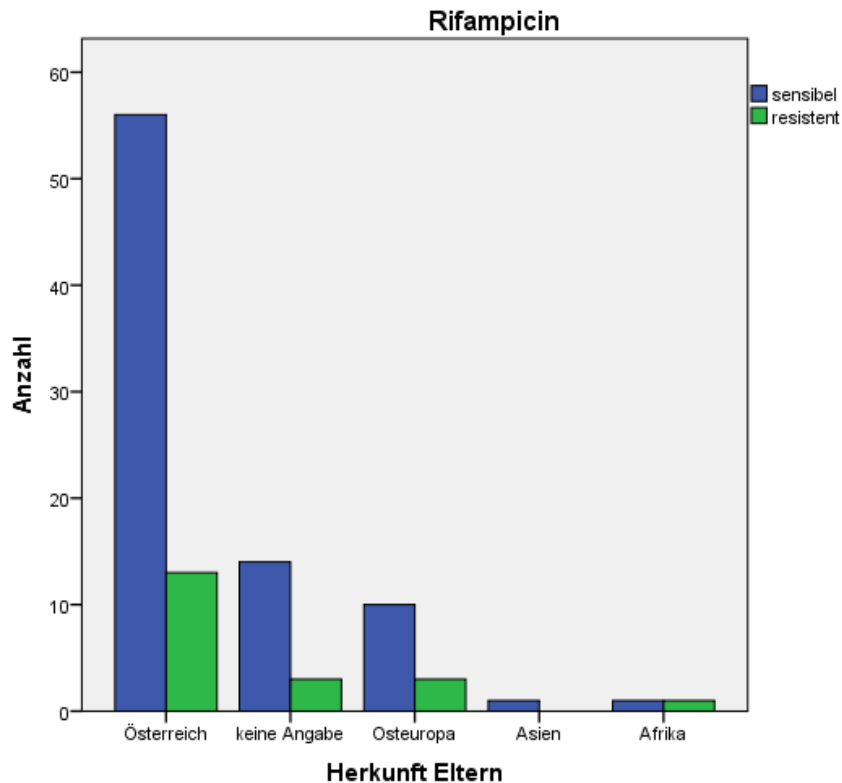


Abbildung 18: Häufigkeit der sensiblen und resistenten H. pylori Kulturen gegen Rifampicin nach Herkunft der Eltern. (n=102)

Tabelle 7: Kreuztabellen der anamnestischen Risikofaktoren für Resistenz (n=102)

Ab Tx 6 Mo: Antibiotikatherapie in den letzten 6 Monaten

Clarithromycin

Eradikation	Sensibel	Resistent
Ja	6 (8,2%)	15 (51,7%)
Nein	67 (91,8%)	14 (48,3%)

Rifampicin

Eradikation	Sensibel	Resistent
Ja	15 (18,3%)	6 (30%)
Nein	67 (81,7%)	14 (70%)

Clarithromycin

Nikotin	Sensibel	Resistent
Ja	16 (22,2%)	5 (17,9%)
Nein	49 (68,10%)	17 (60,7%)
k.A.	7 (9,7%)	6 (21,4%)

Rifampicin

Nikotin	Sensibel	Resistent
Ja	16 (20%)	5 (25%)
Nein	56 (70%)	10 (50%)
k.A.	8 (10%)	5 (25%)

Clarithromycin

Asthma	Sensibel	Resistent
Ja	1 (1,4%)	2 (7,1%)
Nein	65 (89%)	20 (71,4%)
k.A.	7 (9,6%)	6 (21,4%)

Rifampicin

Asthma	Sensibel	Resistent
Ja	2 (2,5%)	1 (5%)
Nein	71 (87,7%)	14 (70%)
k.A.	8 (9,9%)	5 (25%)

Clarithromycin

Ab Tx in 6 Mo	Sensibel	Resistent
Ja	6 (8,2%)	8 (28,6%)
Nein	58 (79,5%)	16 (57,1%)
k.A.	9 (12,3%)	4 (14,3%)

Rifampicin

Ab Tx in 6 Mo	Sensibel	Resistent
Ja	12 (14,8%)	2 (10%)
Nein	60 (74,1%)	14 (70%)
k.A.	9 (11,1%)	4 (20%)

Tabelle 8: Gastroskopische Befunde in Bezug auf Clarithromycin und Rifampicin Resistenz (n=101)

Clarithromycin

unauffällig	Sensibel	Resistent
Ja	16 (21,9%)	11 (37,9%)
Nein	55 (75,3%)	18 (62,1%)
unbekannt	2 (2,7%)	0 (0%)

Rifampicin

unauffällig	Sensibel	Resistent
Ja	23 (28%)	4 (20%)
Nein	58 (70,7%)	15 (75%)
unbekannt	1 (1,2%)	1 (5%)

Clarithromycin

Antrumgastritis	Sensibel	Resistent
Ja	16 (22,2%)	12 (41,4%)
Nein	56 (77,8%)	17 (58,6%)

Rifampicin

Antrumgastritis	Sensibel	Resistent
Ja	22 (27,2%)	6 (30%)
Nein	59 (72,8%)	14 (70%)

Clarithromycin

Ulzera	Sensibel	Resistent
Ja	10 (13,9%)	3 (10,3%)
Nein	62 (86,1%)	26 (89,7%)

Rifampicin

Ulzera	Sensibel	Resistent
Ja	10 (12,3%)	3 (15%)
Nein	71 (87,7%)	17 (85%)

Clarithromycin

Gastritis	Sensibel	Resistent
Ja	33 (45,8%)	4 (13,8%)
Nein	39 (54,2%)	25 (86,2%)

Rifampicin

Gastritis	Sensibel	Resistent
Ja	30 (37%)	7 (35%)
Nein	51 (63%)	13 (65%)

Clarithromycin

Erosionen	Sensibel	Resistent
Ja	6 (8,3%)	4 (13,8%)
Nein	66 (91,7%)	25 (86,2%)

Rifampicin

Erosionen	Sensibel	Resistent
Ja	8 (9,9%)	2 (10%)
Nein	73 (90,1%)	18 (90%)

## 4 Diskussion

Wie bereits in diversen Studien aufgezeigt, kann man eine stetige Zunahme der Antibiotikaresistenz von *H. pylori* beobachten.(76–81) Besorgniserregend ist hier besonders der Anstieg der Prävalenz der Primärresistenz gegenüber Clarithromycin. Bei De Francesco et al. gab es in einigen europäischen Ländern einen Anstieg der Höchstwerte für die Clarithromycinresistenz von 2000 bis 2009 von ca. 23% auf 49%.(76) Weil eine Resistenz gegenüber Clarithromycin die Rate für eine erfolgreiche Eradikationstherapie um 70% sinken lässt, ist dies klinisch von besonderer Relevanz.(77,82) Die momentane Erfolgsrate für die Standardtherapien liegt bei circa 70-85%. Therapeutisches Ziel ist, dass die Erfolgsrate zwischen 90-95% liegt. Die momentan verfügbaren Therapiemöglichkeiten sind gemäß ihrer Effektivität eigentlich inadäquat.(82) Eine Verlängerung der Therapiedauer von Clarithromycin-enthaltenden Therapieformen von 7 auf 10-14 Tage erhöht die Eradikationsrate um 5%.(83) Im Maastricht IV Consensus Report wurden die Guidelines für die *H. pylori* Therapie neu festgelegt. Dabei wurde als grundlegender Algorithmus für die Erstlinientherapie die Prävalenz der Clarithromycinresistenz definiert. Die Standard-Tripeltherapie ist bis zu einem Grenzwert von 15-20% beizubehalten, andernfalls muss man auf andere Schemata ausweichen.(83) In diesem Zusammenhang wird von mehreren Studien empfohlen, die regionale Prävalenz der Antibiotikaresistenz zu eruieren. Da es starke regionale Unterschiede zu geben scheint, ist für eine vertrauenswürdige Empfehlung an Kliniker eine repräsentative, lokale Datenerhebung essentiell.(76,77,80,84–86) Gründe für die Zunahme der Resistenzen könnten das vorschnelle und das zu häufige Verschreiben von Antibiotika in Arztpraxen für Symptome sein, die häufig nicht durch Bakterien ausgelöst werden. Dies war historisch ein Hauptfaktor. Ungefähr 50% der Antibiotika werden in den USA nach wie vor unnötig verschrieben.(87) Zu lange und unpassende Therapieschemata können auch einen verstärkten und unnötigen evolutionären Druck auf Bakterien ausüben.(87)

### 4.1 Clarithromycin

In der europaweiten Studie von Megraud et al. wurde für Österreich eine Primärresistenz gegenüber Clarithromycin von 36,6% ermittelt. Für Österreich nahm an dieser Studie nur ein Zentrum aus Wien teil.(80) Das Ziel unserer Studie war es, repräsentative Daten für die Steiermark und Kärnten zu erheben. Unsere Studie mit einer Fallzahl von 81 *H. pylori* positiven Kulturen ohne vorherige Eradikationstherapie ergab eine Clarithromycinresistenzrate von 17,7%. Die Vergleichbarkeit der beiden Studien bezüglich

der Methoden und dem Studiendesign ist sehr hoch. In beiden Fällen wurden die EUCAST breakpoints von MHK  $S \leq 0,25$  und  $R \geq 0,5$  mg/L gewählt. In beiden Studien wurden Proben während einer Gastroskopie gesammelt und Primärresistenzen nach positiver *H. pylori* Kultur mittels antimikrobieller E-tests ermittelt. Deshalb ist das stark divergierende Ergebnis doch überraschend. In der Studie von Megraud et al. wurde eine mittlere Fallzahl von 69 pro Zentrum erhoben, abhängig von der Bevölkerungsanzahl des Landes.(80) Da Österreich ein vergleichsweise kleines Land ist, und nur ein Zentrum eingeschlossen wurde, ist von einer niedrigeren Fallzahl als unserer (n=81) auszugehen. Leider fehlen exakte Daten zum Einzelergebnis aus Österreich. Ein wichtiger Unterscheidungspunkt könnte das Patientenkollektiv betreffen. Laut dieser Studie wurden in Österreich auch Kinder getestet. Kinder und jüngere Patienten weisen meist eine andere und meist höhere Resistenzrate auf.(80) Begründet wird dieses Ergebnis meist mit einer gesteigerten Makrolidanwendung in jüngerem Lebensalter.(81,81,88) Es gibt allerdings auch Ergebnisse, die einen gegenteiligen Zusammenhang aufzeigen. In der Studie von Almeida et al. war ein höheres Lebensalter ein unabhängiger Faktor für Clarithromycinresistenz.(84) Bei Megraud et al. selbst betragen die Resistenzraten für Clarithromycin 17,5% vs. 31,8% bei Erwachsenen und Kindern.(80) Es ist fraglich, ob die Resistenzwerte aus Wien repräsentativ sind, speziell, weil weder die Altersverteilung noch die Fallzahl für Österreich aufgeschlüsselt wurden. In unserer Studie konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Alter der Patienten und der Prävalenz von resistenten *H. pylori* Keimen beobachtet werden. Dabei besteht eine Assoziation zwischen jüngerem Alter des Patienten und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für die Besiedelung mit einem clarithromycinresistenten Keim.

Eine andere Studie, welche die regionalen Daten mit den Zahlen von Megraud et al. diskutierte, beschrieb für Spanien eine Resistenzrate von 30% gegenüber Clarithromycin.(89) Dagegen bezifferte sie die Untersuchung von Megraud et al. 2012 mit 14%.(80)

Unsere Ergebnisse zeigten einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen einer absolvierten Eradikationstherapie und einer erhöhten Resistenzrate. Dieser Zusammenhang wird durch die Ergebnisse von den Studien Agudo et al., Wueppenhorst et al. und Miendje Deyi et al. bestätigt.(86,89,90) Die Sekundärresistenz gegen Clarithromycin 72,2% war allerdings nicht ganz so hoch wie in anderen vergleichbaren europäischen Studien 91% (91) und 88,3%(84). Es wurde in unserer Studie nicht erhoben, ob die Eradikationstherapien erfolglos waren, oder ob es sich um eine Reinfektion handelte. Daher kann man hier keine

Unterscheidung treffen. Nichtsdestotrotz scheint eine erfolgte Eradikationstherapie ein Hauptrisikofaktor für eine Resistenzentwicklung zu sein.

In unserer Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen Clarithromycin Resistenz und einem Geschlecht festgestellt werden. Dies entspricht den Ergebnissen von Agudo et al.(89), im Gegensatz dazu beschrieben sowohl Almeida et al. als auch De Francesco et al. eine signifikante Häufung von Resistenzen bei Frauen.(76,84) Als mögliche Begründung wird häufig der vermehrte Einsatz von Antibiotika bei Frauen in der Gynäkologie genannt.(84)

Bei Megraud et al. wurde die Geburt außerhalb Nordeuropas als unabhängiger Risikofaktor, einen Makrolid resistenten Keim zu akquirieren, beschrieben.(80)In unserer Studie konnten wir diese Hypothese aufgrund mangelnder Patienten aus dieser Gegend nicht bestätigen. Allerdings ist in unserer Studie kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Herkunft der Eltern und einer gehäuften Resistenz zu eruieren. Um hier gesicherte Tendenzen nachzuweisen, sind jedoch vermutlich größere Fallzahlen oder eine Metaanalyse notwendig. In unserer Studie konnten wir keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Clarithromycin sensiblen und der Clarithromycin resistenten *H. pylori* Gruppe beobachten. In der Literatur wird ein erhöhtes Auftreten von resistenten Keimen beschrieben, wenn keine peptischen Ulzera vorliegen.(76,80) Dieser Risikofaktor kann von uns nicht bestätigt werden. Eine mögliche Erklärung könnte wiederum die zu geringe Fallzahl in unserer Studie sein.

#### **4.2 Rifampicin**

In den Resultaten zeigten sich Primärresistenzwerte von 17,7% gegenüber Rifampicin. Solch hohe Werte sind unter Kenntnis der vorhergehenden Studien doch sehr überraschend (0,8 & 1,1% & 1,4%).(77,80,92) Da Rifampicin in der *H. pylori* Therapie keine wesentliche Rolle spielt, sind die hohen Werte in diesem Kontext auch nicht besonders relevant. Trotzdem stellt Rifampicin eine wichtige Substanz in der Infektiologie dar. Im Kampf gegen Tbc, Osteomyelitis und als Kombinationstherapie in der Behandlung von Fremdkörperinfektionen ist Rifampicin essentieller Bestandteil der Therapie. Weil Rifampicin ein wesentlicher Wirkstoff zu Bekämpfung von Staphylokokken assoziierten Fremdkörperinfektionen ist, scheint es von höchster Priorität, Rifampicinresistenz zu diskutieren und dieser Entwicklung nachzugehen.(93) Eine mögliche Erklärung ist die enge strukturelle Verwandtschaft von Rifaximin und Rifampicin, die eine kreuzreaktive Resistenz

verursachen kann.(94) Es könnte sein, dass der ungezielte Einsatz von Rifaximin (Colidimin) zu noch nicht abschätzbaren Resistenzen führt.(93) Wir konnten nachweisen, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem männlichen Geschlecht und dem Auftreten einer Rifampicin-Resistenz besteht. Erhöhter Colidiminverbrauch unter Männern könnte ein Grund sein. Deshalb raten wir zu einer streng indikationsgebundenen Anwendung nach Ausschöpfen der Alternativen.

### **4.3 Metronidazol**

Die Primärresistenz von Metronidazol in unserer Studie betrug 6,3%, was in starkem Gegensatz zu anderen Studien steht (29-35%).(77,80,84) Dieser deutliche Gegensatz ist uns nicht in ganzer Dimension erklärbar. Da signifikante Häufungen der Metronidazolresistenz beim weiblichen Geschlecht öfter beschrieben wurden, könnte die höhere Gesamtzahl der Männer (54,9%) eine Erklärung sein.(76,81,84) In unserer Studie waren 5,3% Metronidazolresistente Keime bei männlichen Patienten, dagegen 15,2% bei den weiblichen. De Francesco et al. berichten von einer stabilen Resistenzlage bezüglich Metronidazol in Europa, was auch einer starken Abnahme entgegen spricht.(76) Nichtsdestotrotz hat die Resistenz gegen Metronidazol im Gegensatz zu Clarithromycin wenig Einfluss auf den Therapieerfolg.(77,95)

### **4.4 Levofloxacin**

Die Primärresistenzrate von Levofloxacin betrug in unserer Studie 5,2%. Diese Zahl ist, in internationalen Vergleich gestellt, eher niedrig, aber durchaus vergleichbar. Das Spektrum der Resistenzraten gegen Levofloxacin ist sehr breit: 14,2% in Europa (80), 11,7% in Deutschland (77), 33,9% in Portugal (84). Die niedrige Resistenzrate liegt vor allem an dem jungen Alter der Gruppe der Chinolone. Sie sind erst seit Beginn des 21. Jahrhunderts für die *H. pylori*-Therapie zugelassen. Nach wie vor stellt die Therapie mit Levofloxacin eine brauchbare 2nd-line Therapie dar.(83) Allerdings gilt es zu bedenken, dass bei breiter Anwendung die Resistenzraten sehr schnell ansteigen könnten.(86,96) In der Literatur scheint *H. pylori* speziell unter älteren Patienten und bei Frauen verstärkt Resistenz gegen Levofloxacin zu erhalten, was auf die Behandlung von Urogenitalinfektionen durch Fluorchinolone zurückgeführt werden kann.(84,89) Unsere Fallzahl von 7 resistenten Keimen ist allerdings zu niedrig um seriöse Aussagen zu treffen.

## 4.5 Resistenzentwicklung

Da zu lange und nicht optimal adaptierte Therapieschemata auch einen verstärkten und unnötigen selektiven Druck auf bakterielle Keime ausüben können, sollte intensiv über spezifische Therapie nachgedacht werden.(87) Dies ist vermutlich ein wichtiger Grund für die Empfehlung einer Sensibilitätstestung vor der Zweitlinientherapie bei der Durchführung einer Endoskopie und Kultur, aber spätestens nach der 2nd-line Therapie.(83)

Andere Daten geben Grund zur Überlegung über eine frühere Sensibilitätstestung. In einer chinesischen Metaanalyse konnte gezeigt werden, dass eine maßgeschneiderte Tripeltherapie nach Sensibilitätstestung eine höhere Effektivität in der Erstlinienbehandlung einer *H. pylori* Infektion aufweist als die Standard-Tripeltherapie. Ein ökonomischer Vorteil der primären Sensibilitätstestung konnte ebenfalls festgestellt werden. Allerdings muss diese Analyse mit Vorsicht betrachtet werden, da nur eine Studie dabei ausgewertet wurde. Es ist zu vermuten, dass die Annahme richtig ist, allerdings unter der Voraussetzung einer regionalen hohen Clarithromycinresistenz.(97) Wenn man dies berücksichtigt, muss man unter dem volkswirtschaftlichen Gesichtspunkt ebenfalls eine Empfehlung für die regionale Resistenztestung aussprechen.(98)

Weitere wichtige Punkte für die Resistenzentwicklung sind ein Mangel an Aufklärung und Wissen innerhalb der Bevölkerung über Antibiotika und der überbordende Einsatz von antimikrobiellen Substanzen in der Masttierzucht als Prophylaxe, Metaphylaxe und Wachstumsbeschleuniger. In der EU wurde allerdings 2003 ein Verbot für die Verwendung von Antibiotika als Wachstumsbeschleuniger erlassen und seit 2012 ist die Verwendung von Antibiotika nur nach veterinärmedizinischer Verordnung erlaubt.(87)

Wichtig zu verstehen ist jedoch, dass nicht menschliches Handeln allein verantwortlich ist für die Entstehung von Resistenzen. Es konnte Resistenzentwicklung auch bei Bakterien beobachtet werden, die nachweislich keinem menschlichen Handeln ausgesetzt waren. Resistente Elemente konnten demnach sogar aus bakterieller DNA isoliert werden, welche seit über 30 000 Jahren in Permafrost eingeschlossen war. Entwicklung bakterieller Resistenz gegenüber Antibiotika ist also ein natürlicher Prozess und würde auch ohne menschliche Misswirtschaft bestehen. Nichtsdestotrotz haben die Verwendung und die Fehlverwendung von Antibiotika einen unnatürlichen Selektionsdruck auf Bakterien ausgelöst, der den evolutionären Prozess beschleunigt.(87)

Einen weiteren interessanten Hinweis auf Resistenzentwicklung gibt uns die Untersuchung bezüglich des Gebrauchs von Antibiotika in den letzten 6 Monaten. Signifikant mehr Patienten mit einem Clarithromycin resistenten Keim hatten in den letzten 6 Monaten eine

Antibiotikatherapie, verglichen mit Patienten, die von einem Clarithromycin sensiblen Keim besiedelt waren (28,6% vs. 8,2%). Die Angabe einer antibiotischen Therapie in den letzten 6 Monaten korrelierte mit einer Zunahme der Resistenz von *H. pylori*. Dies zeigt, dass es einen Zusammenhang geben dürfte zwischen einer gesteigerten Resistenzrate und dem Verbrauch von Antibiotika. Zuvor wurde bereits auf einen signifikanten Anstieg der *H. pylori* Resistenzen gegenüber Makroliden durch das langwirkende Azithromycin hingewiesen.(80)

Wie bereits erwähnt, steigert sich die Prävalenzrate von Resistenz mit der Zahl der Eradikationstherapien. In einer Studie von Selgrad et al. wurden die Daten von *H. pylori* Resistenzen gegenüber Clarithromycin, Metronidazol, Levofloxacin, Rifabutin und Tetracyclin ausgewertet und zwischen Primär, Sekundär und Tertiärresistenz unterschieden. Die Clarithromycinresistenzrate steigerte sich kontinuierlich von 7,5%, 63,2%, auf 75,4%.(77) Zusätzlich ist anzunehmen, dass zum Teil auch durch allgemeinen Antibiotikakonsum, der nicht gezielt gegen *H. pylori* eingesetzt wird ein erhöhter Selektionsdruck entsteht und damit Resistenzen gefördert werden.(77) Ein möglicher Motor für diese Tendenz könnte auch die zunehmende Anwendung von Protonenpumpeninhibitoren sein.(99) Durch das Anheben des pH Werts im Magen wirken Antibiotika stärker auf *H. pylori*. In der Therapie ein gewollter Effekt, bei nicht diagnostizierter *H. pylori* Infektion könnte dieses Phänomen allerdings ein möglicher Faktor für die Resistenzsteigerung sein. Da durch das weniger saure Milieu im Magen die Antibiotika verstärkt im Magen wirksam werden, wird der vorhandene *H. pylori* einem gesteigerten Selektionsdruck ausgesetzt. Wenn also eine orale antimikrobielle Therapie gegen eine andere Erkrankung verschrieben wird, könnte dies den potentiell vorhandenen *H. pylori*, bei gleichzeitiger Einnahme von PPIs, zur Resistenzentwicklung anregen. Diese Vermutung wird unterstützt durch die Empfehlung, dass eine gesteigerte PPI Dosis die Erfolgsrate einer Eradikationstherapie unterstützt.(83)

#### **4.6 Zusammenfassung**

Zusammenfassend kann man sagen, dass die regionale Datenerhebung zur Primärresistenz von *H. pylori* in der Steiermark und Kärnten wichtige Informationen über die lokale Resistenzsituation bringt. Weil sich unsere Ergebnisse deutlich von den im Zuge der europaweiten Studie von Megraud et al. erhobenen unterscheiden, empfehlen wir auch für andere Teile Europas und Österreichs lokale Resistenztestungen durchzuführen.(80) Die erhobene primäre Clarithromycinresistenz von 17,7% liegt im europaweiten Durchschnitt

(17,5%).(80) Folglich kann man weiterhin die laut Maastricht IV Consensus Report angeleitete Erstlinien-Tripel Therapie empfehlen.(83) Allerdings sollte man sich aufgrund der absehbaren ansteigenden Entwicklung über mögliche alternative Behandlungskonzepte Gedanken machen. Die hohe Resistenzrate von Rifampicin (17,7%) war für uns überraschend und sollte bei weiteren Untersuchungen und Überlegungen miteinbezogen werden.

## Literaturverzeichnis

1. Yang I, Nell S, Suerbaum S. Survival in hostile territory: the microbiota of the stomach. *FEMS Microbiol Rev.* 1. September 2013;37(5):736–61.
2. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, u. a. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci.* 17. Januar 2006;103(3):732–7.
3. Warren J. Spiral bacteria of the gastric antrum. [*Med J Aust.* 1984] - PubMed - NCBI [Internet]. [zitiert 22. August 2014]. Verfügbar unter: <http://han.medunigraz.at/han/pubmed/www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6472190>
4. 400px-H.pylori.gif (GIF-Grafik, 400 × 248 Pixel) [Internet]. [zitiert 2. Januar 2015]. Verfügbar unter: <http://microbewiki.kenyon.edu/images/thumb/2/24/H.pylori.gif/400px-H.pylori.gif>
5. Hof H, Dörries, Rüdiger. *Medizinische Mikrobiologie.* Stuttgart: Thieme; 2014.
6. Bauerfeind P, Garner R, Dunn BE, Mobley HL. Synthesis and activity of *Helicobacter pylori* urease and catalase at low pH. *Gut.* Januar 1997;40(1):25.
7. Akcam M, Elmas O, Yilmaz A, Çağlar S, Artan R, Gelen T, u. a. Myeloperoxidase, xanthine oxidase and superoxide dismutase in the gastric mucosa of helicobacter pylori positive and negative pediatric patients. *Mol Cell Biochem.* 25. September 2006;290(1-2):125–30.
8. Bureš J. Significant decrease in prevalence of *Helicobacter pylori* in the Czech Republic. *World J Gastroenterol.* 2012;18(32):4412.
9. Walker MM, Talley NJ. Review article: bacteria and pathogenesis of disease in the upper gastrointestinal tract – beyond the era of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther.* 1. April 2014;39(8):767–79.
10. Calvet X, Ramírez Lázaro M-J, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* September 2013;18 Suppl 1:5–11.
11. Martinsen TC, Bergh K, Waldum HL. Gastric Juice: A Barrier Against Infectious Diseases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 1. Februar 2005;96(2):94–102.
12. Sidebotham RL, Worku ML, Karim QN, Dhir NK, Baron JH. How *Helicobacter pylori* urease may affect external pH and influence growth and motility in the mucus environment: evidence from in-vitro studies. *J Gastroenterol.* 2003;15(4):395–401.
13. Research: *Helicobacter pylori* [Internet]. [zitiert 2. Januar 2015]. Verfügbar unter: <http://www.umich.edu/~hltmlab/research/pylori/>
14. Lu H, Yamaoka Y, Graham DY. *Helicobacter pylori* virulence factors: facts and fantasies. *Curr Opin Gastroenterol.* November 2005;21(6):653–9.
15. Posselt G, Backert S, Wessler S. The functional interplay of *Helicobacter pylori* factors with gastric epithelial cells induces a multi-step process in pathogenesis. *Cell Commun Signal.* 2013;11(1):77.

16. Aspholm-Hurtig M. Functional Adaptation of BabA, the *H. pylori* ABO Blood Group Antigen Binding Adhesin. *Science*. 23. Juli 2004;305(5683):519–22.
17. Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Borén T, Rad R, Schepp W, u. a. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 26. Oktober 1999;96(22):12778–83.
18. Eaton KA, Brooks CL, Morgan DR, Krakowka S. Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *Infect Immun*. Juli 1991;59(7):2470.
19. Lytton SD, Fischer W, Nagel W, Haas R, Beck FX. Production of ammonium by *Helicobacter pylori* mediates occludin processing and disruption of tight junctions in Caco-2 cells. *Microbiol Read Engl*. Oktober 2005;151(Pt 10):3267–76.
20. Rassow J. *Helicobacter pylori* vacuolating toxin A and apoptosis. *Cell Commun Signal CCS*. 2011;9:26.
21. Sewald X, Fischer W, Haas R. Sticky socks: *Helicobacter pylori* VacA takes shape. *Trends Microbiol*. März 2008;16(3):89–92.
22. Calore F, Genisset C, Casellato A, Rossato M, Codolo G, Esposti MD, u. a. Endosome–mitochondria juxtaposition during apoptosis induced by *H. pylori* VacA. *Cell Death Differ*. November 2010;17(11):1707–16.
23. Yamasaki E, Wada A, Kumatori A, Nakagawa I, Funao J, Nakayama M, u. a. *Helicobacter pylori* Vacuolating Cytotoxin Induces Activation of the Proapoptotic Proteins Bax and Bak, Leading to Cytochrome c Release and Cell Death, Independent of Vacuolation. *J Biol Chem*. 21. April 2006;281(16):11250–9.
24. Wallden K, Rivera-Calzada A, Waksman G. Microreview: Type IV secretion systems: versatility and diversity in function: Diversity and versatility of the type IV secretion system. *Cell Microbiol*. September 2010;12(9):1203–12.
25. Shiota S, Suzuki R, Yamaoka Y. The significance of virulence factors in *Helicobacter pylori*: Virulence factors in *H. pylori*. *J Dig Dis*. Juli 2013;14(7):341–9.
26. Hussein NR, Argent RH, Marx CK, Patel SR, Robinson K, Atherton JC. *Helicobacter pylori dupA* Is Polymorphic, and Its Active Form Induces Proinflammatory Cytokine Secretion by Mononuclear Cells. *J Infect Dis*. 15. Juli 2010;202(2):261–9.
27. Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA and Gastric Cancer: A Paradigm for Hit-and-Run Carcinogenesis. *Cell Host Microbe*. März 2014;15(3):306–16.
28. Hatakeyama M, Higashi H. *Helicobacter pylori* CagA: a new paradigm for bacterial carcinogenesis. *Cancer Sci*. 1. Dezember 2005;96(12):835–43.
29. Mahdavi J. *Helicobacter pylori* SabA Adhesin in Persistent Infection and Chronic Inflammation. *Science*. 26. Juli 2002;297(5581):573–8.
30. Yamaoka Y, Kudo T, Lu H, Casola A, Brasier AR, Graham DY. Role of interferon-stimulated responsive element-like element in interleukin-8 promoter in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology*. April 2004;126(4):1030–43.

31. Wang F, Meng W, Wang B, Qiao L. Helicobacter pylori-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett.* April 2014;345(2):196–202.
32. Böcker W. *Pathologie: mit Zugang zum Elsevier-Portal.* München: Urban & Fischer in Elsevier; 2012.
33. Malfertheiner P, Chan FK, McColl KE. Peptic ulcer disease. *The Lancet.* Oktober 2009;374(9699):1449–61.
34. Holle. Pathophysiology and modern treatment of ulcer disease (Review). *Int J Mol Med.* 2. März 2010 ;25(4).
35. Correa P. Gastric Cancer. *Gastroenterol Clin North Am.* Juni 2013;42(2):211–7.
36. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 1. März 2011;61(2):69–90.
37. Ford AC, Forman D, Hunt RH, Yuan Y, Moayyedi P. Helicobacter pylori eradication therapy to prevent gastric cancer in healthy asymptomatic infected individuals: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ.* 20. Mai 2014;348(may20 1):g3174–g3174.
38. Lordick F, Allum W, Carneiro F, Mitry E, Tabernero J, Tan P, u. a. Unmet needs and challenges in gastric cancer: The way forward. *Cancer Treat Rev.* Juli 2014;40(6):692–700.
39. Zullo A, Hassan C, Ridola L, Repici A, Manta R, Andriani A. Gastric MALT lymphoma: old and new insights. *Ann Gastroenterol.* 2014;27(1):27.
40. Roubaud Baudron C, Franceschi F, Salles N, Gasbarrini A. Extragastric Diseases and Helicobacter pylori. *Helicobacter.* 1. September 2013;18(s1):44–51.
41. Garza-González E. A review of *Helicobacter pylori* diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. *World J Gastroenterol.* 2014;20(6):1438.
42. Lan H-C, Chen T-S, Li AF-Y, Chang F-Y, Lin H-C. Additional corpus biopsy enhances the detection of Helicobacter pylori infection in a background of gastritis with atrophy. *BMC Gastroenterol.* 2012;12(1):182.
43. Hazell, S. L., Hennessy, W. B., Borody, T. J., Carrick, J., Ralston, M., Brady, L., u. a. Campylobacter pyloridis Gastritis II: Distribution of Bacteria and Associated Inflammation in the Gastrointestinal Environment. *SOURCE Am J Gastroenterol.* April 1987;82(4):297.
44. J S Woo HM el-Z. The best gastric site for obtaining a positive rapid ureas test. *Helicobacter.* 1997;1(4):256–9.
45. Hirschl AM, Makristathis A. Methods to Detect Helicobacter pylori: From Culture to Molecular Biology. *Helicobacter.* 1. November 2007;12(s2):6–11.
46. Gisbert JP, Pajares JM. Review article: 13C-urea breath test in the diagnosis of Helicobacter pylori infection – a critical review. *Aliment Pharmacol Ther.* 1. November 2004;20(10):1001–17.

47. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon ATR, Bazzoli F, u. a. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut*. 1. Mai 2012;61(5):646–64.
48. Carrasco G, Corvalan AH. *Helicobacter pylori*-Induced Chronic Gastritis and Assessing Risks for Gastric Cancer. *Gastroenterol Res Pract*. 2013;2013:1–8.
49. Hopkins RJ. In Search of the Holy Grail of *Helicobacter pylori* Remedies. *Helicobacter*. Juni 2001;6(2):81–3.
50. Graham DY, Fischbach L. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. *Gut*. 1. August 2010;59(8):1143–53.
51. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, u. a. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut*. 1. Juni 2007;56(6):772–81.
52. Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, Hungin APS, Jones R, Axon A, u. a. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection—The Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther*. 20. Februar 2002;16(2):167–80.
53. Aktories K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 2013.
54. Xiong L jing, Tong Y, Wang Z, Mao M. Detection of Clarithromycin-Resistant *Helicobacter pylori* by Stool PCR in Children: A Comprehensive Review of Literature. *Helicobacter*. 1. April 2013;18(2):89–101.
55. Mégraud F. Epidemiology and mechanism of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. November 1998;115(5):1278–82.
56. Freeman CD, Klutman NE, Lamp KC. Metronidazole. A therapeutic review and update. *Drugs*. 1997;5(54):679–708.
57. Soares GMS, Figueiredo LC, Faveri M, Cortelli SC, Duarte PM, Feres M. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *J Appl Oral Sci*. Juni 2012;20(3):295–309.
58. Croom KF, Goa KL. Levofloxacin: a review of its use in the treatment of bacterial infections in the United States. *Drugs*. 2003;24(63):2769–802.
59. Moore RA, Beckthold B, Wong S, Kureishi A, Bryan LE. Nucleotide sequence of the *gyrA* gene and characterization of ciprofloxacin-resistant mutants of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1. Januar 1995;39(1):107–11.
60. Zhang J-X. Proton pump inhibitor for non-erosive reflux disease: A meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2013;19(45):8408.
61. Megraud F. The challenge of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics: the comeback of bismuth-based quadruple therapy. *Ther Adv Gastroenterol*. 1. März 2012;5(2):103–9.
62. Ford A-C. Adverse events with bismuth salts for *Helicobacter pylori* eradication: Systematic review and meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2008;14(48):7361.

63. Graham DY, Shiotani A. New concepts of resistance in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. *Nat Clin Pract Gastroenterol* 38 Hepatol. Juni 2008;5(6):321–31.
64. Boyanova L, Mitov I. Geographic map and evolution of primary *Helicobacter pylori* resistance to antibacterial agents. *Expert Rev Anti Infect Ther*. Januar 2010;8(1):59–70.
65. Suerbaum S, Hahn H, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012.
66. Megraud F. *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance. *Gut*. 29. Juni 2007;56(11):1502–1502.
67. Glupczynski Y, Labbé M, Hansen W, Crokaert F, Yourassowsky E. Evaluation of the E test for quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol*. 9. Januar 1991;29(9):2072–5.
68. Karczewska Elżbieta, Wojtas-Bonior Izabela, Sito Edward, Zwolińska-Wcisła Małgorzata, Budak Alicja. Primary and secondary clarithromycin, metronidazole, amoxicillin and levofloxacin resistance to *Helicobacter pylori* in southern Poland. *Pharmacol Rep*. 2011;63(3):799–807.
69. Etest® [Internet]. bioMérieux Industry website. [zitiert 14. Januar 2015]. Verfügbar unter: <http://www.biomerieux-industry.com/veterinary-diagnostics/etestr>
70. F S. Antibiotic susceptibility and resistance testing: an overview. *Can J Gastroenterol J Can Gastroenterol*. November 2000;14(10):871–5.
71. Hassan IJ, Stark RM, Greenman J, Millar MR. Activities of  $\beta$ -Lactams and Macrolides against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother*. Juni 1999;43(6):1387.
72. Mouton JW, Brown DFJ, Apfalter P, Cantón R, Giske CG, Ivanova M, u. a. The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC breakpoints: the EUCAST approach: The role of PK/PD in setting clinical MIC breakpoints. *Clin Microbiol Infect*. März 2012;18(3):E37–45.
73. De Francesco V, Giorgio F, Hassan C, Manes G, Vannella L, Panella C, u. a. Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review. *J Gastrointest Liver Dis*. Dezember 2010;19(4):409–14.
74. Megraud F, Coenen S, Versporten A, Kist M, Lopez-Brea M, Hirschl AM, u. a. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. *Gut*. Januar 2013;62(1):34–42.
75. Y. G, F. M, M. L-B, L. A. European Multicentre Survey of in Vitro Antimicrobial Resistance in *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1. November 2001;20(11):820–3.
76. De Francesco V, Giorgio F, Hassan C, Manes G, Vannella L, Panella C, u. a. Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review. *J Gastrointest Liver Dis JGLD*. Dezember 2010;19(4):409–14.

77. Selgrad M, Meile J, Bornschein J, Kandulski A, Langner C, Varbanova M, u. a. Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* in central Germany and its relationship with the number of eradication therapies: *Eur J Gastroenterol Hepatol*. November 2013;25(11):1257–60.
78. Saracino I, Zullo A, Holton J, Castelli V, Florini G, Zaccaro C, u. a. High prevalence of primary antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* isolates in Italy. *J Gastrointest Dis*. 2012;21(4):363–5.
79. Iwańczak F, Iwańczak B. Treatment of *Helicobacter pylori* infection in the aspect of increasing antibiotic resistance. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ*. Oktober 2012;21(5):671–80.
80. Megraud F, Coenen S, Versporten A, Kist M, Lopez-Brea M, Hirschl AM, u. a. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. *Gut*. 1. Januar 2013;62(1):34–42.
81. Biernat MM, Poniewierka E, Błaszczuk J, Czapla L, Kempieński R, Książczyńska D, u. a. Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* isolates from Lower Silesia, Poland. *Arch Med Sci AMS*. 29. Juni 2014;10(3):505–9.
82. Graham DY, Fischbach L. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. *Gut*. August 2010;59(8):1143–53.
83. Malfertheiner P, Megraud F, O’Morain CA, Atherton J, Axon ATR, Bazzoli F, u. a. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut*. 1. Mai 2012;61(5):646–64.
84. Almeida N, Romãozinho JM, Donato MM, Luxo C, Cardoso O, Cipriano MA, u. a. *Helicobacter pylori* antimicrobial resistance rates in the central region of Portugal. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 31. Mai 2014;
85. Graham DY, Fischbach L. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. *Gut*. 1. August 2010;59(8):1143–53.
86. Miendje Deyi VY, Bontems P, Vanderpas J, De Koster E, Ntounda R, Van den Borre C, u. a. Multicenter Survey of Routine Determinations of Resistance of *Helicobacter pylori* to Antimicrobials over the Last 20 Years (1990 to 2009) in Belgium. *J Clin Microbiol*. 1. Juni 2011;49(6):2200–9.
87. Tor Y, Fair R. Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. *Perspect Med Chem*. August 2014;25.
88. Vécsei A, Kipet A, Innerhofer A, Graf U, Binder C, Gizci H, u. a. Time Trends of *Helicobacter pylori* Resistance to Antibiotics in Children Living in Vienna, Austria: *Helicobacter pylori* resistance in Children. *Helicobacter*. Juni 2010;15(3):214–20.
89. Agudo S, Pérez-Pérez G, Alarcón T, López-Brea M. High prevalence of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains and risk factors associated with resistance in Madrid, Spain. *J Clin Microbiol*. Oktober 2010;48(10):3703–7.

90. Wueppenhorst N, Stueger H-P, Kist M, Glocker E-O. High secondary resistance to quinolones in German *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother.* 1. Juli 2013;68(7):1562–6.
91. Branca G, Spanu T, Cammarota G, Schito AM, Gasbarrini A, Gasbarrini GB, u. a. High levels of dual resistance to clarithromycin and metronidazole and in vitro activity of levofloxacin against *Helicobacter pylori* isolates from patients after failure of therapy. *Int J Antimicrob Agents.* November 2004;24(5):433–8.
92. Glocker E, Bogdan C, Kist M. Characterization of rifampicin-resistant clinical *Helicobacter pylori* isolates from Germany. *J Antimicrob Chemother.* 15. März 2007;59(5):874–9.
93. Valentin T, Leitner E, Rohn A, Zollner-Schwetz I, Hoenigl M, Salzer HJF, u. a. Rifaximin intake leads to emergence of rifampin-resistant staphylococci. *J Infect.* Januar 2011;62(1):34–8.
94. Valentin T, Hoenigl M, Wagner J, Krause R, Zollner-Schwetz I. Bacteraemia with rifampin-resistant *Staphylococcus aureus* and the potential role of cross-resistance between rifampin and rifaximin. *J Infect.* September 2014;69(3):295–7.
95. Malfertheiner P, Bazzoli F, Delchier J-C, Celiński K, Giguère M, Rivière M, u. a. *Helicobacter pylori* eradication with a capsule containing bismuth subcitrate potassium, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole versus clarithromycin-based triple therapy: a randomised, open-label, non-inferiority, phase 3 trial. *The Lancet.* März 2011;377(9769):905–13.
96. Karczewska E, Wojtas-Bonior I, Sito E, Zwolińska-Wcisło M, Budak A. Primary and secondary clarithromycin, metronidazole, amoxicillin and levofloxacin resistance to *Helicobacter pylori* in southern Poland. *Pharmacol Rep.* 2011;63(3):799–807.
97. Wenzhen Y, Yumin L, Quanlin G, Kehu Y, Lei J, Donghai W, u. a. Is antimicrobial susceptibility testing necessary before first-line treatment for *Helicobacter pylori* infection? Meta-analysis of randomized controlled trials. *Intern Med Tokyo Jpn.* 2010;49(12):1103–9.
98. Smith SM, O’Morain C, McNamara D. Antimicrobial susceptibility testing for *Helicobacter pylori* in times of increasing antibiotic resistance. *World J Gastroenterol WJG.* 7. August 2014;20(29):9912–21.
99. Bouwknegt M, van Pelt W, Kubbinga ME, Weda M, Havelaar AH. Potential association between the recent increase in campylobacteriosis incidence in the Netherlands and proton-pump inhibitor use – an ecological study. *Eurosurveillance.* 14. August 2014;19(32).

## Anhang Fragebogen

### Primärresistenzen von *Helicobacter pylori* in Österreich

#### Datenblatt

Vor und Zuname	
Geburtsdatum	
Herkunftsland der Eltern	
Geschlecht	Männlich <input type="checkbox"/> Weiblich <input type="checkbox"/>
Indikation zur Gastroskopie	Dyspeptische Beschwerden Reflux Anämieabklärung Sonstige:
Therapie mit Antibiotika in den letzten 6 Monaten	Ja <input type="checkbox"/> Wenn ja, welche? Nein <input type="checkbox"/>
Nikotinabusus	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>
Asthma bronchiale in der Anamnese	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>

Bitte den Gastroskopiebefund und die unterschriebene Einverständniserklärung beilegen.